

**SIÇANLARDA AKRİLONİTRİL İLE OLUŞTURULMUŞ OKSİDATİF
STRESE KARŞI TİMOKİNON VE KURKUMİNİN OLASI
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEMAL AKKAYA

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ECZACILIK BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
TEMMUZ-2018**

**SIÇANLARDA AKRİLONİTRİL İLE OLUŞTURULMUŞ OKSİDATİF
STRESE KARŞI TİMOKİNON VE KURKUMİNİN OLASI
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEMAL AKKAYA

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ**

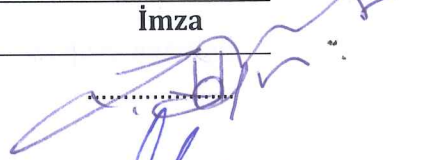

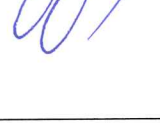
**ECZACILIK BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Z. Nil ÜNAL**

**MERSİN
TEMMUZ-2018**

ONAY

Kemal AKKAYA tarafından Dr. Öğr. Üyesi Z. Nil Ünal danışmanlığında hazırlanan "Sıçanlarda Akrilonitril İle Oluşturulmuş Oksidatif Strese Karşı Timokinon ve Kürkuminin Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması" başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 17/07/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Dr. Öğr. Üyesi Z. Nil ÜNAL	
Üye	Prof.Dr. Lülüfer TAMER	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Bahadır ERCAN	

Yukarıdaki jüri kararı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun 24.07.2018 tarih ve 2018/319 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Banu ÇOŞKUN YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

Tarih/ Date

İmza / Signature



Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname
Kemal AKKAYA

ÖZET

SIÇANLARDA AKRİLONİTRİL İLE OLUŞTURULMUŞ OKSİDATİF STRESE KARŞI TİMOKİNON VE KURKUMİNİN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Akrilonitril (vinil siyanür), nitril kauçuk ve polimerize edilmiş plastiklerin (atılabilir şişeler gibi) sentezinde yaygın olarak kullanılan reaktif bir kimyasaldır. Çalışmamızda, akrilonitril ile oluşturulmuş oksidatif strese karşı kurkumin ve timokinonun olası koruyucu etkileri incelendi. Çalışmaya dahil edilen 42 sıçan 6 farklı gruba ayrıldı. Bu gruplar, kontrol, akrilonitril, kurkumin, akrilonitril+kurkumin, timokinon, akrilonitril+timokinon gruplarıdır. Çalışmanın sonunda planlandığı gibi hayvanlar kurban edilerek karaciğer ve böbrek dokuları uygun şekilde izole edildi ve bu dokularda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) düzeyleri incelendi. Karaciğer ve böbrek dokusunda, MDA seviyesi incelendiğinde akrilonitrilin MDA seviyesini artırdığı, akrilonitril grubu ile akrilonitril+kurkumin, akrilonitril+timokinon tedavisi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görüldü. Karaciğer dokusunda CAT ve SOD aktiveteleri ve GSH düzeyi akrilonitril uygulamasından sonra azalmış bulunurken, akrilonitril uygulandıktan sonra, kurkumin ve timokinon tedavisi uygulanan gruplarda CAT ve SOD aktiveteleri ve GSH düzeyi artmış olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile akrilonitril grubu karşılaştırıldığında CAT ve SOD aktiveteleri ve GSH düzeylerinin azaldığı, MDA seviyesinin arttığı ancak akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup ile akrilonitril grubu karşılaştırıldığında CAT, SOD aktiveteleri ve GSH düzeylerinin arttığı, MDA seviyesinin azaldığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Aynı şekilde akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup ile akrilonitril grubu karşılaştırıldığında CAT, SOD aktiveteleri ve GSH düzeylerinin arttığı, MDA seviyesinin azaldığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Sonuç olarak çevresel bir kirlenici olan akrilonitrilin canlılarda oksidatif stres oluşturduğu ve antioksidan enzim seviyelerinde ve aktivitelerinde düşüşe sebep olduğu görüldü. Kurkumin ve timokinonun oluşan bu oksidatif stresi azaltıcı yönde etki gösterdiği ve antioksidan enzim seviyelerini ve aktivitelerini arttırdığı gösterildi. Tüm bunlardan yola çıkarak akrilonitrilin canlılarda yaratabileceği oksidatif strese karşı kurkumin ve timokinonun etkili bir koruyucu olabileceği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Oksidatif stres, Akrilonitril, Kurkumin, Timokinon, Antioksidan Sistem

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Z. Nil Ünal, Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF THYMOQUINONE AND CURCUMIN AGAINST OXIDATIVE STRESS WITH ACRYLONITRILE IN RATS

Acrylonitrile (vinyl cyanide) is a reactive chemical commonly used in the synthesis of nitrile rubber and polymerized plastics (such as disposable bottles). In our study, possible protective effects of curcumin and thymoquinone on oxidative stress produced by acrylonitrile were investigated. Forty-two rats that were included in the study were divided into six different groups as follows: control, acrylonitrile, curcumin, acrylonitrile + curcumin, thymoquinone, acrylonitrile + thymoquinone groups. At the end of the study, the animals were sacrificed and the liver and kidney tissues were isolated appropriately and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) levels were examined as planned. When MDA level were examined in liver and kidney tissue, it was seen that MDA levels statistically increased in acrylonitrile group compared to control, but the levels of MDA decreased in acrylonitrile + curcumin and acrylonitrile + thymoquinone treatment groups compared to acrylonitrile group. CAT and SOD activities and GSH levels were found to be decreased after application of acrylonitrile in liver tissue, whereas CAT and SOD activities and GSH levels were increased in the groups treated with curcumin and thymoquinone treatment, and this increase was statistically significant. When compared control and acrylonitrile groups, CAT and SOD activities and GSH levels decreased and MDA levels increased in acrylonitrile group, but statistically significant increased CAT, SOD activities and GSH levels and decreased MDA levels were observed in therapeutic curcumin group compared to acrylonitrile group in kidney tissue. Similarly, When compared control and acrylonitrile groups, CAT and SOD activities and GSH levels decreased and MDA levels increased in acrylonitrile group, but statistically significant increased CAT, SOD activities and GSH levels and decreased MDA levels were observed in therapeutic, thymoquinone group compared to acrylonitrile group in kidney tissue. As a result, we observed that acrylonitrile, as an environmental contaminant, causes oxidative stress in living organisms and causes a decrease in antioxidant enzyme levels and activities. Kurkumin and thymokinone have been shown to reduce this oxidative stress and increase antioxidant enzyme levels and activities with this study. From all these, it can be said that kurkumin and thymokinon may be effective protectors against the oxidative stress that acrylonitrile can cause in living things. Taking all these data together, it may be said that kurkumin and thymokinone may be effective protectors against oxidative stress which caused by acrylonitrile.

Keywords: Oxidative stress, Acrylonitrile, Curcumin, Thymoquinone, Antioxidant system

Advisor: Dr. Z. Nil Ünal, Mersin University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Mersin.

TEŞEKKÜR

Değerli bilgileri ile alıŐmama yon veren, alıŐmamın her aŐamasında bana yardım eden, manevi desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Z. Nil ÜNAL'a,
Bilgi paylaŐımları ve desteklerinden dolayı değerli bölüm hocalarım Prof. Dr. Serap YALIN'a, Doç Dr. A. Erdinç YALIN'a ve Doç. Dr. Necmiye CANACANKATAN'a
Tez çalıŐmalarım sırasında deneylerimi gerçekleŐtirmemde yardımlarını esirgemeyen Metin YILDIRIM, Merih AKKAPULU'ya,
ÇalıŐmalarıma verdiği desteklerden dolayı Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Son olarak bugünlere gelmemde en büyük desteği sağlayan, sabır ve sevgiyle yanımda olan çok değerli aileme sonsuz saygı ve Őukranlarımı sunarım.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	Vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
1. GİRİŞ	14
2. GENEL BİLGİLER	16
2.1. Serbest Radikaller	16
2.1.2. Serbest Radikallerin Oluşumu	17
2.1.3. Serbest radikallerin biyolojik moleküller üzerine etkileri	18
2.1.3.1. Lipitler Üzerine Etkileri	20
2.1.3.2. Proteinler üzerine etkileri	22
2.1.3.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri	23
2.1.3.4. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri	23
2.2. Oksidatif Stres	24
2.2.1. Hastalıkların oluşmasında oksidatif stresin rolü ve oksidatif stresle ilişkili hastalıklar	25
2.2.1.1. Kanser ve oksidatif stres	25
2.2.1.2. Diabetes mellitus ve oksidatif stres	26
2.2.1.3. Kardiyovasküler rahatsızlıklar ve oksidatif stres	26
2.2.1.4. Nörolojik rahatsızlıklar ve oksidatif stres	27
2.2.1.5. Böbrek hasarı ve oksidatif stres	27
2.2.1.6. Romatoid artrit ve oksidatif stres	27
2.3. Akrilonitril	28
2.3.1. Akrilonitril fiziksel ve kimyasal özellikler	28
2.3.2. Akrilonitril üretimi ve kullanımı	28
2.3.3. Akrilonitrile maruziyet	29
2.3.4. Akrilonitrilin toksisitesi	29
2.3.5. Akrilonitrilin metabolizması	30
2.3.5.1. Oksidatif yol	31
2.3.5.2. Non-Oksidatif yol	32
2.3.5.2.1. Doku proteinlerine kovalent bağlanma	32
2.3.5.2.2. Glutasyonun tükenmesi	32
2.3.6. Akrilonitrilin antidotları	33
2.4. Antioksidan savunma sistemleri	35
2.4.1. Antioksidanların sınıflandırması	36
2.4.2. Enzimatik antioksidanlar	37
2.4.2.1. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	39
2.4.2.2. Katalaz (CAT)	40
2.4.2.3. Süperoksit dismutaz (SOD)	40
2.4.2.4. Glutasyon S-Transferaz (GST)	41
2.4.2.5. Glutasyon redüktaz (GRx)	42
2.4.2.6. Miyeloperoksidaz (MPO)	42
2.4.3. Enzimatik olmayan antioksidanlar	43

2.4.3.1. C Vitamini (Askorbik asit)	43
2.4.3.2. Vitamin E (α -Tokoferol)	43
2.4.3.3. Glutasyon (GSH)	44
2.4.3.4. Karotenoidler (β -karoten)	44
2.4.4. Bitkisel kaynaklı antioksidanlar	46
2.4.4.1. Kurkumin	46
2.4.4.2. Timokinon (TQ)	49

3. MATERYAL VE YÖNTEM	53
3.1. Materyal	53
3.1.1. Hayvan materyali	53
3.1.2. Alet ve teçhizat	53
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	54
3.2. Deney Grupları	55
3.3. Yöntem	55
3.3.1. Doku Örnekleri	55
3.3.2. Homojenizasyon	55
3.3.3. Analiz Yöntemleri	56
3.3.3.1. Protein Ölçümü (Lowry Metodu)	56
3.3.3.2. Malondialdehit (MDA) Ölçümü	56
3.3.3.3. SOD Ölçümü	56
3.3.3.4. Glutasyon (GSH) ölçümü	57
3.3.3.5. Katalaz (CAT) ölçümü	58
3.3.4. İstatistiksel Analizler	58
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	59
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	75
KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ	84

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Karaciğer dokusu için antioksidan parametrelerin ortalamaları	59
Tablo 4.2. DeneY Grularına ait Karaciğer Dokusunun SOD Aktivitelerinin Karşılaştırılması.	60
Tablo 4.3. DeneY Grularına ait Karaciğer Dokusunun CAT Aktivitelerinin Karşılaştırılması	61
Tablo 4.4. DeneY Grularına ait Karaciğer Dokusunun GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması	62
Tablo 4.5. DeneY Grularına ait Karaciğer Dokusunun MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması	63
Tablo 4.6. Böbrek dokusu için antioksidan parametrelerin ortalamaları	64
Tablo 4.7. DeneY Grularına ait Böbrek Dokusunun SOD Aktivitelerinin Karşılaştırılması	65
Tablo 4.8. DeneY Grularına ait Böbrek Dokusunun CAT Aktivitelerinin Karşılaştırılması	66
Tablo 4.9. DeneY Grularına ait Böbrek Dokusunun GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması	67
Tablo 4.10. DeneY Grularına ait Böbrek Dokusunun MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Reaktif oksijen ve azot türleri	16
Şekil 2.2 Oksijen kaynaklı radikal oluşumu	18
Şekil 2.3. Serbest radikallerin hedefleri	19
Şekil 2.4. Hücresel serbest radikallerin etkilediği moleküller	20
Şekil 2.5. Doymamış lipitlerin fosfolipit peroksidasyonu	21
Şekil 2.6. Lipit peroksidasyonundaki çeşitli yollar	22
Şekil 2.7. Oksidan-antioksidan denge	25
Şekil 2.8. Akrilonitrilin metabolizması	30
Şekil 2.9. Akrilonitril metabolizması	31
Şekil 2.10. Akrilonitrilin antidotlarının mekanizması	34
Şekil 2.11. Deneyde kullanılan akrilonitril	35
Şekil 2.12. Antioksidan sınıflandırma	37
Şekil 2.13. ROS'un oluşumu ve bunlara karşı savunma mekanizması	38
Şekil 2.14. SOD, CAT ve GSH-Px'in radikal süpürücü aktivitesi	38
Şekil 2.15. a) Katalaz, b) Glutasyon peroksidaz, c) Süperoksit dismutaz	39
Şekil 2.16. SOD'nin antioksidan etkisi	40
Şekil 2.17. Glutasyon S-transferazın katalizlediği ksenobiyotik-glutasyon konjugasyonu	42
Şekil 2.18. MPO-H ₂ O ₂ -klorür antimikrobiyal sistemi	43
Şekil 2.19. Glutasyon	44
Şekil 2.20. Glutasyonun indirgenmiş formunda (GSH) ve oksitlenmiş formda (GSSG) glutasyon oksidaz, GRx ve GSH-Px enzimleri ile interkonversiyonu	45
Şekil.2.21. Kurkuminin serbest radikal temizleme mekanizması	47
Şekil.2.22. kurkuminin serbest radikal temizleyici aktivitesi	48
Şekil.2.23. <i>Curcuma longa</i> bitkisi rizomlarıyla birlikte	49
Şekil 2.24. Timokinon	50
Şekil 2.25. <i>Nigella sativa</i> bitkisi ve etkin maddesi timokinonun etkileri	51
Şekil 2.26. Deneyde kullanılan timokinon ve kurkumin etken maddesi	52
Şekil.3.1. SOD tayini	57
Şekil.3.2. Katalaz	58
Şekil 4.1. Karaciğer Dokusu SOD Aktiviteleri	59
Şekil 4.2. Karaciğer Dokusu CAT Aktiviteleri	61
Şekil 4.3. Karaciğer Dokusu GSH Düzeyleri	62
Şekil 4.4. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri	63
Şekil 4.5. Böbrek Dokusu SOD Aktiviteleri	65
Şekil 4.6. Böbrek Dokusu CAT Aktiviteleri	66
Şekil 4.7. Böbrek Dokusu GSH Düzeyleri	67
Şekil 4.8. Böbrek Dokusu GSH Düzeyleri	68

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
CEO	2-siyanoetilen oksit
α	Alfa
Cu	Bakır
β	Beta
Zn	Çinko
Fe	Demir
Fe	Demir
DNA	Deoksiribonükleik Asit
GSH	Glutasyon
GSH	Glutasyon
GSSG	Glutasyon Disülfid
GSSG	Glutasyon Disülfid
GSR	Glutasyon Disülfid Redüktaz
GSH-Px (GPx)	Glutasyon Pekoksidaz
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GRx	Glutasyon Redüktaz
GST	Glutasyon S-Transferaz
GST	Glutasyon S-Transferaz
gr	Gram
H ₂	Hidrojen
OH	Hidroksil
OH·	Hidroksil radikali
ROOH	Hidroperoksit
i.p.	İntraperitonel
CAT	Katalaz
KAT	Katalaz
kg	Kilogram
XOD	Ksantin Oksidaz
LOOH	Lipit hidroperoksiti
MDA	Malondialdehit
Mn	Manganez
mg	Miligram
mL	Milimetre
MPO	Miyeloperoksidaz
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
O ₂	Oksijen
Cu	Peroksi Radikali
ROO·	Peroksil Radikali
X·	Radikal
RNS	Reaktif Azot Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri

ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RA	Retinoik asitler
RNA	Ribonükleik Asit
°C	Santigrat Derece
Se	Selenyum
H ₂ O	Su
O ₂ ⁻	Süperoksit Anyonu
SOD	Süperoksit Dismutaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
O ₂ ^{·-}	Süperoksit Radikali
TQ	Timokinon



1. GİRİŞ

Doğa büyük oranda kimyasal maddelerden oluşmaktadır. Bu kimyasalların bir kısmı yaşam için gerekli iken bir kısmı yaşamı tehdit eder. Günümüzde endüstriyel üretim sonucunda oluşan kimyasalların doğal ortama verilmesi doğanın sağlıklı bir şekilde varlığını sürdürebilmesini tehlikeye düşürmektedir. Bu kimyasallar çevresel kirleticiler olarak adlandırılmaktadır [1]. Bu çevresel kirleticilerden bir tanesi de akrilonitrildir. Akrilonitril, akrilik elyaf, reçine ve plastikler gibi çeşitli organik ürünlerin sentezinde, yaygın olarak kullanılan bir monomerdur. Endüstriyel amaçlarla genellikle tekstil ve otomotiv sanayinde hammadde olarak kullanılan akrilonitril doğal olmayan bir maddedir ve yüksek miktarlarda üretilmektedir. Üretim, depolama ve taşıma koşulları sızıntı oluşturmayacak şekilde yapıldığında çevrede yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu saptanmamıştır [2]. Oksijen (O_2) yaşam için vazgeçilmez bir unsurdur. Hücreler O_2 kullanarak enerji üretirlerken, mitokondriden ATP (adenozin trifosfat) üretimi sonucu serbest radikaller oluşur. Bu yan ürünler, genellikle, hücresel redoks prosesinden kaynaklanan reaktif azot türleri (RNS) ve bunun yanı sıra reaktif oksijen türleri (ROS)'dir. Bu türler toksik olabildikleri gibi yararlı da olabilmektedirler ve bu bakımdan çift yönlü etki gösterirler. İki karşıt etkileri arasındaki hassas denge hayatı açıkça etkileyen önemli bir etmendir [3]. Oksidatif stres, hücrelerde hidroksil radikali (OH^\cdot), süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve H_2O_2 gibi ROS'un miktarının artması veya bunları zararsız hale getiren antioksidanların azalması sonucu oksidatif dengenin bozulması durumudur [4]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin pek çok hastalığın patogeneğinde etken olarak gösterilmesi dikkat çekmektedir. Oksidatif stres kaynaklı olumsuz etkilerin azaltılması veya yok edilmesi amacıyla farklı yollar araştıran çalışmaların sayısı gün geçtikte artış göstermektedir [5]. Oksidatif stresin oluşması birçok faktörün etkisi sonucu oluşmaktadır. Çevresel kirtleticilerde bu sebeplerden biridir. Akrilonitrilin inhale edilmesi, içme suyuna karışması, cilt teması ve mesleki maruziyet ROS'un artışına sebep olmakla birlikte antioksidan aktivitesinin düşmesi bu duruma eşlik edince oksidatif stres meydana gelmektedir. Bu bağlamda geleneksel tedavi yöntemlerinde *Nigella sativa L.* ve *Curcuma longa L.* oldukça yaygın kullanılmaktadır. Ranunculaceae familyasına ait olan *Nigella sativa* bitkisi eski Mısır ve Yunan hekimleri tarafından baş ağrısı, burun tıkanıklığı, diş ağrısını tedavi etmek, bağırsak kurtlarının dökülmesini sağlamak, menstrüasyonu düzenlemek ve anne sütünü arttırmak için kullanılmıştır. Geleneksel ilaç olarak Orta Doğu ve Uzak Doğu' da halk arasında uzun süredir kullanılan çörek otu yağının antibakteriyel, antifungal, antidiyabetik, immunomodülatör, antienflamatuar, analjezik, antiviral, antioksidan ve antihiperlipidemik etkileri bildirilmiştir. Çörek otunun etkin maddesi olan timokinonun (TQ) oksidatif hasara karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Kurkumin, gıda renklendiricisi ya da baharat olarak kullanılan zerdeçal bitkisinin köklerinden elde edilmektedir.

Başta Hindistan, Çin olmak üzere birçok Asya ülkesinde yetişmektedir. Kurkumin ile ilgili yapılan çalışmalarda kurkuminin antioksidan, antikanser, antienflamatuar ve antiseptik özellikler gösterdiği bildirilmiştir [6].



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller

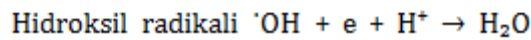
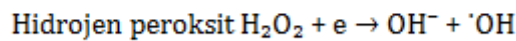
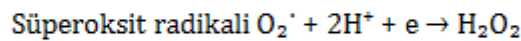
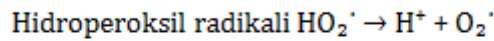
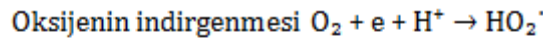
Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya birden fazla eşleşmemiş (tek sayıda) elektron taşıyan, molekül, atom veya atom gruplarıdır [7]. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu dış orbitallerin bir elektron alması ile süperoksid radikali (O_2^*), iki elektron alması ile de peroksil radikali ($ROO\cdot$) oluşur [8]. Hem organik, hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar. Elektron konfigürasyonlarını pozitif yüke dengelemeleri gerektiğinden çok aktiftirler ve bu yüzden stabil değildirler. Radikallerin aktif olabilmelerinde difüzyon mesafesi başlıca etmendir. OH^- son derece yüksek aktivite gösterdiğinden meydana geldiği hücre bölümünden daha uzağa difüzyona gerek kalmadan derhal oluştuğu yerde reaksiyona girer [9]. H_2O_2 ise mitokondriyal membranlar, peroksizomal membranlar ve plazma membranlarından kolayca difüze olarak toksik etkisini açığa çıktığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde gösterebilir [10]. Serbest radikaller kararsız oldukları için reaktiftirler ve bu yüzden kısa ömürlüdürler. Taşıdıkları elektrik yükü açısından; pozitif, negatif ve nötral yüklü olabilirler [11]. Taşıdıkları eşleşmemiş elektrondan dolayı yapılarında dengesizlik barındırırlar ve bu dengesizlikten dolayı çok aktif yapılı olan serbest radikaller hücrenin tüm bileşenleri ile etkileşime girebilme özelliği gösterirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır [12].

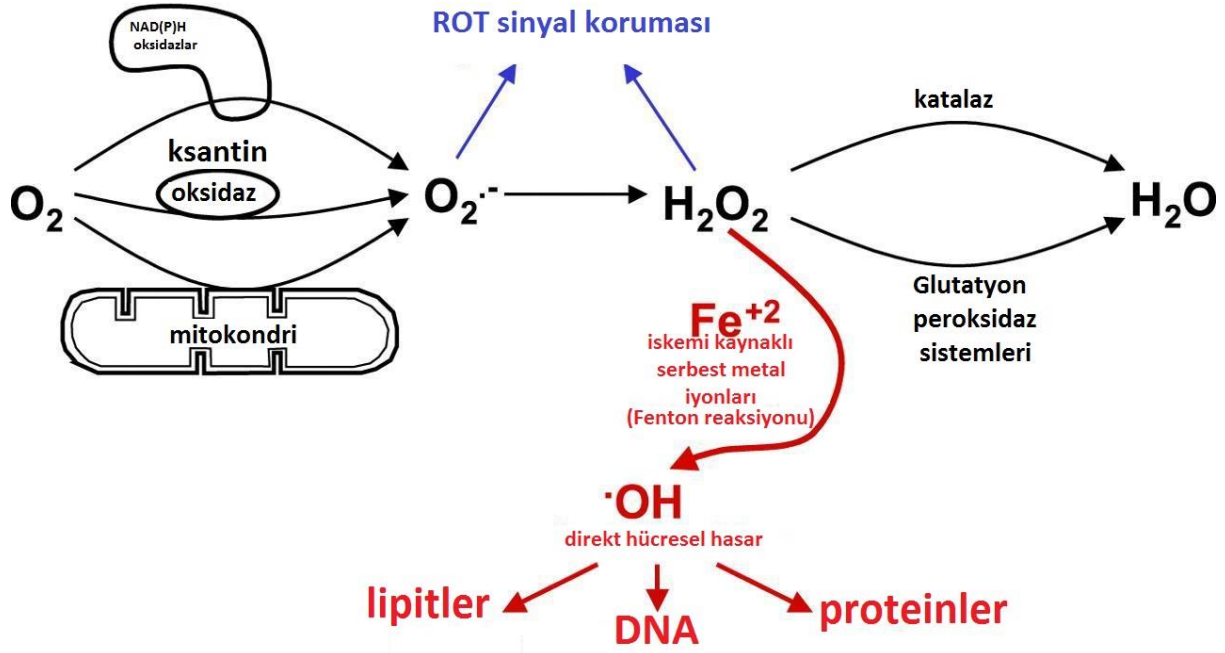
Reaktif oksijen türleri (ROT)	Radikaller	Non- Radikaller	Reaktif azot türleri (RAT)	Radikaller	Non Radikaller
	Hidroksil, $\cdot OH$	Hipoklorik asit, $HOCl$		Nitrik oksit, $NO\cdot$	Alkoksil peroksinitrit, $LOONO$
	Hidroperoksil, $HO_2\cdot$	Hidrojen peroksit, H_2O_2		Nitrojen dioksit, $NO_2\cdot$	Dinitrojen tetroksit, N_2O_4
	Alkoksil, $LO\cdot$	Lipit hidroperoksit $LOOH$			Dinitrojen trioksit, N_2O_3
	Peroksil, $LO_2\cdot$	Ozon, O_3			Nitröz asit, HNO_2
	Süperoksit, $O_2\cdot^-$	Singlet oksijen, 1O_2			Peroksinitrit, $ONOO\cdot$

Şekil 2.1. Reaktif oksijen ve azot türleri [13].

2.1.2. Serbest Radikallerin Oluşumu

Reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türlerinin oluşumu enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar olmak üzere iki şekilde olabilir. Serbest radikallerin oluştuğu enzimatik reaksiyonlara, solunum zincirine katılanlar, fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom p450 dahildir. Örneğin, süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) oksidaz, ksantinoksidaz (XOD) ve peroksidazlar gibi birkaç hücrel oksidaz sistemi vasıtasıyla üretilir. Bir kere oluştuktan sonra, H_2O_2 , OH^- , peroksinitrit ($ONOO^-$), hipokloröz asit ($HOCl$) gibi çeşitli ROS ve RNS'yi veren farklı pek çok reaksiyona katılır. H_2O_2 (radikal olmayan), amino asit oksidaz ve XOD'da dahil olmak üzere birçok oksidaz enzimi tarafından üretilir. Ksantin oksidaz, hipoksantin'in ksantine ve ksantin'den ürik aside oksidasyonunu katalize eder. *İn vivo* ortamda en reaktif serbest radikal olan OH^- , Fe^{2+} veya Cu^+ katalizörlüğünde H_2O_2 ile reaksiyona girerek oluşturulur. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak adlandırılır. Hipokloröz asit ($HOCl$), nötrofil türevi enzim olan miyeloperoksidaz (MPO) tarafından üretilir ve klorür iyonlarını H_2O_2 varlığında oksidize eder. Nitrik oksit radikali (NO^{\bullet}), biyolojik dokularda, nitrik oksit sentaz tarafından L-arjinin'in sitrulin'e oksidasyonu sonucu oluşur. Serbest radikaller, O_2 'nin organik bileşiklerle enzimatik olmayan reaksiyonlarından ve ayrıca iyonlaştırıcı radyasyonlarla başlatılan reaksiyonlarından üretilebilir. Enzimatik olmayan süreç mitokondride ki oksidatif fosforilasyon yani aerobik solunum sırasında da meydana gelebilmektedir. ROS ve RNS, hem endojen hem de eksojen kaynaklardan üretilir. Endojen kaynaklı serbest radikaller, immün hücre aktivasyonu, inflamasyon, zihinsel stres, aşırı egzersiz, iskemi, enfeksiyon, kanser ve yaşlanma gibi nedenlerle üretilir. Eksojen kaynaklı serbest radikallerin oluşmasında endüstriyel solventler, pişirme (tütsülenmiş et, kullanılan yağ), su kirliliği, sigara dumanı, alkol, ağır veya geçiş metalleri (Cd, Hg, Pb, Fe, As), radyasyon ve bazı ilaçlar (siklosporin, takrolimus, gentamisin, bleomisin) rol oynar [3].



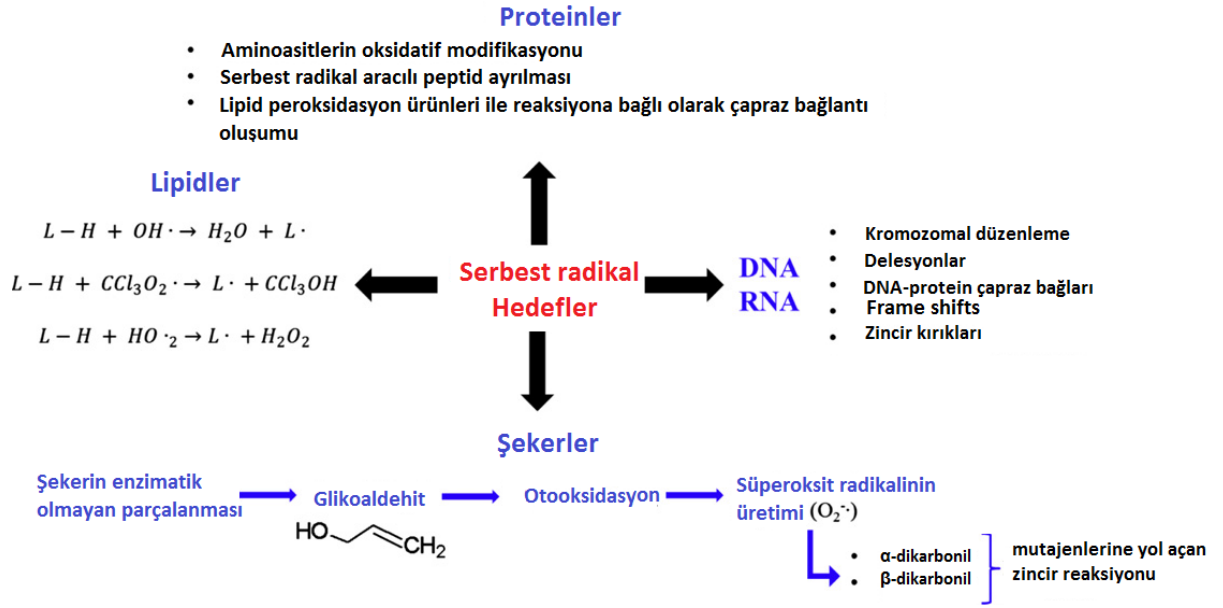


Şekil 2.2 Oksijen Kaynaklı Radikal Oluşumu [14].

2.1.3. Serbest radikallerin biyolojik moleküller üzerine etkileri

Çok hücreli organizmalar genellikle yaşlanmaya bağlı olarak biyolojik fonksiyonların ilerleyici dejeneratif fonksiyonları, hastalıklara yatkınlıkta artma ve belirli bir süre içinde ölme olasılığı gibi niteliksel değişikliklere uğrarlar. Yaşlanmanın yaygın popüler serbest radikal teorisi yaşa bağlı dejeneratif sürecin büyük ölçüde serbest radikal hasarının sonucu olduğunu belirtir [15]. Biyolojik ortamlarda meydana gelen radikallerin ortalama difüzyon yarıçapları ne kadar küçük olursa aktiflikleri de o derece artar. Ayrıca $Cl_3C\cdot$ ve $HO\cdot$ gibi radikallerin biyolojik ortamlardaki yarı ömürlerinin bir kaç mikrosaniye olduğu tesbit edilmiştir. Difüzyon hızları yüksek olduğu halde, düşük aktiviteli radikaller anlamlı hücresel hasarlara sebebiyet veremezler [16]. Radikalik reaksiyonlar, zincir reaksiyonlar olup, genel olarak üç basamakta incelenirler. Başlama evresi, radikalın oluştuğu evredir. Sonra ilerleme basamağı gelir. İlerleme basamağında, radikalik reaksiyon ara ürün olarak ortaya çıkan serbest radikaller üzerinden yürürken hücresel hasarlar ortaya çıkar. İlerleme reaksiyonları, radikal yakalayıcı maddeler yoksa veya yeterli değilse sonsuza kadar devam eder. Bu yüzden radikal yakalayıcı maddeler, hücresel hasarı önlemede ve hücrenin sağlıklı bir şekilde gelişiminde yaşamsal öneme sahiptir. Serbest radikaller, radikal yakalayıcılar tarafından yakalanamazlar ise, sitotoksik durum ortaya çıkar [17,18]. Serbest radikal mekanizmalarının mitokondride oksidasyon, hemoglobin ile O_2 'nin taşınması ve sitokrom P450 aktivitesi gibi birçok fizyolojik reaksiyonda temel bir görevi olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte prostaglandinlerin sentezi sırasında bir serbest radikal

olarak oluşan ara ürün negatif bir feed-back mekanizması ile prostaglandinlerin akışını ve dolayısıyla inflamatuvar süreci ayarlamaktadır [19, 20].



Şekil 2.3. Serbest radikallerin hedefleri [21].

Etkilenen bileşikler	Sonuçlar
Doymamış amino asitler ve kükürt içeren amino asitler	Protein denatürasyonu Çapraz bağlanma Enzim inhibasyonu Organ ve hücre geçirgenliğinde değişimler
Nükleik asit bazları	Hücre gelişiminde değişimler Mutasyon
Karbonhidratlar	Hücre yüzey reseptörlerinde değişim
Doymamış lipitler	Kolesterol ve yağ asitlerinin oksidasyonu
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma Askorbat ve porfirin oksidasyonu
Antioksidanlar	α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
Proteinler	Denatürasyon Peptit zincirlerinde kırılmalar
DNA	Baz modifikasyonları Zincirde kırılmalar
Hyaluronik asit	Sinovial sıvının viskozitesinde değişim

Şekil 2.4. Hüresel serbest radikallerin etkilediği moleküller [21].

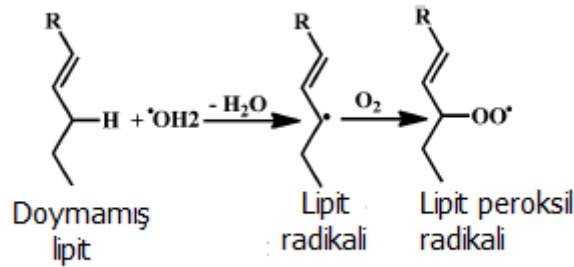
2.1.3.1. Lipitler Üzerine Etkileri

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler fakat lipitler en hassas olanlarıdır [22]. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri serbest radikal hasarına karşı çok duyarlıdır [20]. Lipit peroksidasyonu membranlarda bulunan (fosfolipit, glikolipit, gliserit ve sterol yapısında yer alan) çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipit hidroperoksitlerinin (LOOH) yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar [22].

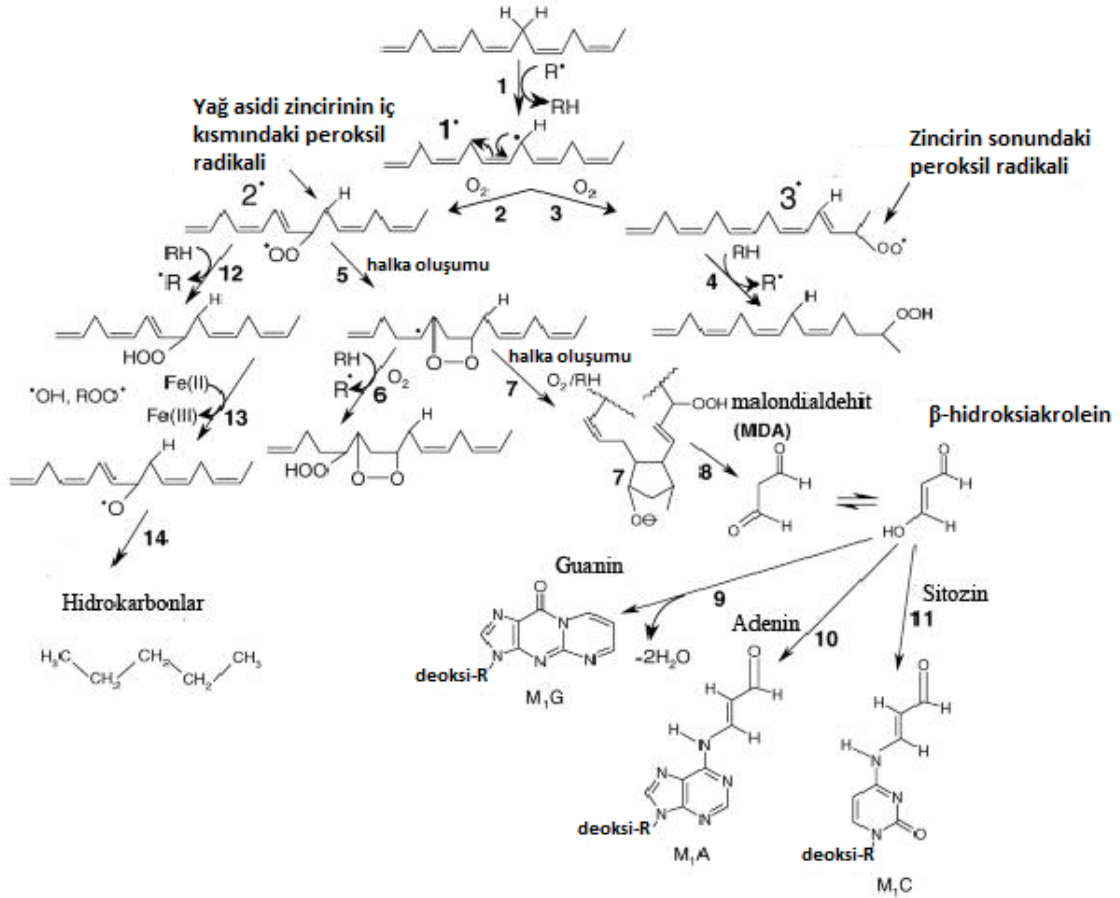
Bunun sonucunda membran akışkanlığında azalma ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir [20]. Unkonjuge çoklu doymamış yağ asidi zincirlerindeki metilen grubundan bir H atomunu

çıkartan herhangi bir serbest radikal türü ile peroksidasyon başlayabilir [22]. Komşusu çift bağ olan bir metilen grubu üzerinde peroksidasyonun başlayabilmesi, daha da kolaydır. Çoklu doymamış yağ asitlerinde konjuge dien oluşabilecek şekilde karbon radikali ile takip edilen bir moleküler reorganizasyon olur. O_2 bir peroksi radikali oluşturmak için karbon radikaline eklenerek diğer bir lipit molekülünden bir H atomu çıkarır ve lipit LOOH'i oluşturur. Böylece zincirleme reaksiyon başlar. Siklik peroksitler yeniden düzenlenme ile endoperoksitlere, daha ileri oksidasyon ile de malondialdehit'e (MDA) dönüşebilirler (Şekil 2.5.) [20]. MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına yol açar. Bu durum, membran iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitelerinin değişmesine ve benzer daha birçok olumsuz durumun ortaya çıkmasına neden olur. Küçük bir molekül olan MDA, kolay difüzlenebildiği için DNA (Deoksiribonükleik Asit) bazları ile rahatlıkla reaksiyona girer. Bütün bu olumsuz etkiler, MDA'ye mutajenik, genotoksik ve karsinojenik özellik verir [21].

Lipit peroksidasyon ürünleri DNA hasarına ve Na/K ATPaz ve glutamat taşıyıcıları gibi proteinlerin inhibisyonuna neden olur. Artan lipit peroksidasyonu ve azalan antioksidan korumalar sonucu epoksitler oluşur. Bunlar hücre içinde nükleofilik merkez ile spontan olarak reaksiyona girip DNA, Ribonükleik Asit (RNA) ve proteinlere kovalent olarak bağlanır. Bu tür reaksiyonlar sitotoksositeye, alerjiye, mutajeniteye ve karsinojenezise neden olabilir [23].



Şekil 2.5. Doymamış lipitlerin fosfolipit peroksidasyonu [24].



Şekil 2.6. Lipit peroksidasyonundaki çeşitli yollar [25].

2.1.3.2. Proteinler üzerine etkileri

Serbest radikaller proteinleri doğrudan etkilerken proteinlerin etkilenme derecesini içerdikleri amino asitlerin disülfid bağı miktarı belirler [26]. Oransal olarak fazla miktarda disülfid bağı içeren ekstraselüler proteinler serbest radikaller ile daha yüksek reaktivliğe sahip olduklarından (IgG, Albumin gibi) hidroksil ve peroksil radikal saldırısına karşı daha hassastırlar [26,27]. Serbest radikal saldırısı ile proteinlerde aminoasitlerin modifikasyonu, proteinlerin fragmentasyonu ve proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmaları olmak üzere üç farklı yapısal değişiklik meydana gelebilir [27]. Protein oksidasyonu proteinlerin, ROT ile kovalent değişikliği sonucu meydana gelir. Araştırmacılar protein oksidasyonuna yol açan ana mekanizmaların OH-nin etkisiyle polipeptit omurgadaki çeşitli aminoasitlerin α-karbon atomlarından hidrojen atomunun çıkarılması sonucunda başladığını saptamışlardır. Protein oksidasyonunu asıl başlatan OH-dir [28]. Bununla beraber doğada bulunan oksitlenmiş proteinlerin birçoğu, işlevsel olarak aktif değildir ve hızlı bir şekilde uzaklaştırılır. Fakat zamanla

aşamalı olarak bir miktar birikebilir. Böylece bir takım hastalıklara ve yaşlılık ile ilişkili hasarlara da sebep olur [26].

2.1.3.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest radikaller karbonhidratlar üzerinden patolojik süreçlerde önemli roller oynayan çeşitli ürünler meydana getirirler [29]. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik pH ve ısıda otooksidasyona uğrayarak süperoksit ve H_2O_2 oluştururlar. Glukoz gibi monosakkaritlerin fizyolojik şartlarda otooksidasyonu ile H_2O_2 , peroksitler ve okzoaldehitler oluşabilir. Bağ dokunun önemli bir mukopolisakkariti olan hiyaluronik asidin inflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıda artmış olan H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ ile parçalanabildiği gösterilmiştir [30]. Karbonhidratların proteinlere bağlanması (glükasyon) proteinlerin serbest radikal saldırısına duyarlılığını arttırmaktadır [27]. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı çeşitli hastalıkların patolojisinde önemli rol oynarlar [31]. Hyaluronik asit sinovyal sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan bir glukozamioglikandır ve ROS ile etkileşmesi sonucu bağ dokusunun stabilitesi bozulabilir. Bağ dokusunun dayanıklılığını ve stabilitesini sağlayan hyaluronik asitin özellikle süperoksit grubuyla etkileşmesi bağ dokunun bozulmasına ve bağ dokusu sıvısının akışkanlığını yitirmesine neden olabilir [32]. Osteoartritlerde, serbest radikallerin, kollajen ve hyaluronik asit üzerine etkileri ile dejenerasyon ve bu dejenerasyona bağlı olarak iltihabi durumlar meydana gelebilir. Bir glukozamioglikan olan ve sinovyal sıvıya vizkosite sağlayan hyaluronik asit, $O_2^{\cdot-}$ radikali ile etkileşince depolimerizasyona uğrar. Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT), ekstraselüler sıvılarda çok düşük aktiviteli olduklarından az miktardaki oksijen radikalleri bile büyük hasarlara yol açabilmektedir [21].

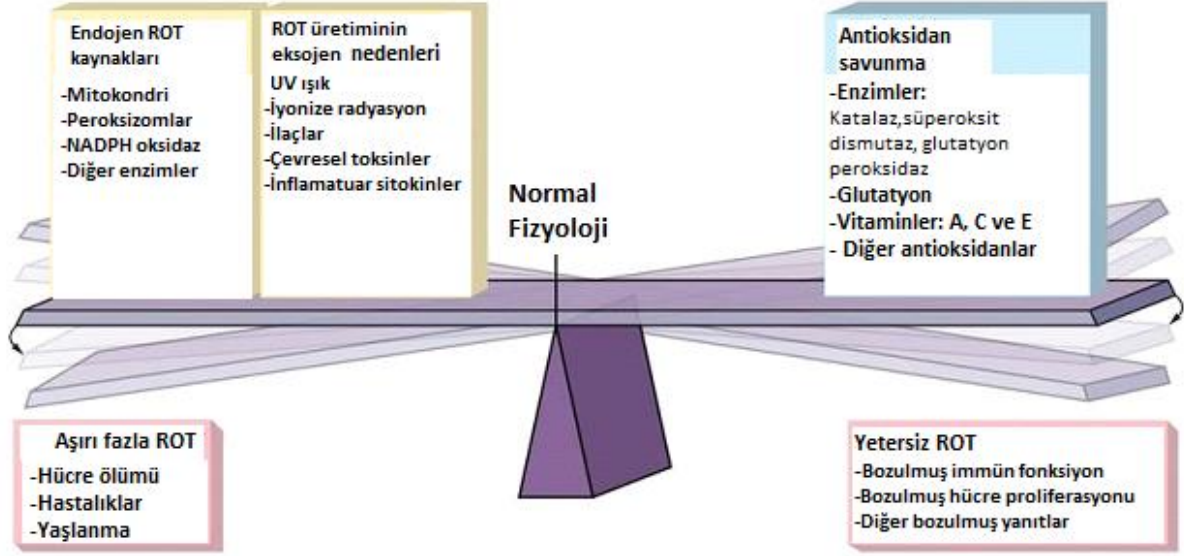
2.1.3.4. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri

Ultraviyole, görünür ışık, ısı, X ışınları gibi radyasyonun bütün çeşitleri hücrelerde iyonların, serbest radikallerin ve enerji kazanmış moleküllerin oluşmasına neden olur [21]. DNA, OH^{\cdot} gibi serbest radikaller tarafından kolaylıkla hasara uğratılabilir [26]. DNA'da oluşabilecek oksidatif hasar, mutasyonlara neden olabilen farklı oksidatif DNA lezyonlarının oluşmasına yol açar [33]. İn vitro olarak sulu çözeltilerle yapılan çalışmalarda OH^{\cdot} radikalinin deoksiriboz ve tetrasiklik bazlarla kolaylıkla reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Fakat çift zincirli DNA molekülünde heterosiklik bazlar OH^{\cdot} radikallerine karşı sterik olarak çok iyi korunmuşlardır. Ayrıca enzimatik radikal yakalayıcılar öncü hidroksil radikallerinin konsantrasyonunu düşürerek DNA'yı korurlar. Hidroksil radikalleri; DNA'daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-

fosfatlarla reaksiyon verirler. Reaksiyon sonucu, DNA bazlarını modifiye eder ve riboz- fosfat zincirinin kırılmasına yol açar [21].

2.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, antioksidan savunma ve oksidanlar arasındaki kritik dengenin oksidanların tarafına bozulmasıyla açığa çıkan serbest radikal/reaktif oksijen ürünlerinin vücudun DNA, lipid, protein gibi moleküllerine saldırarak hücrelerde hasar oluşturmasına denir (Şekil 2.7.) [34]. Serbest radikal üretimi ile antioksidan savunmalar arasındaki bir dengesizlik sonucunda ortaya çıkan oksidatif stres, lipitler, proteinler ve nükleik asitler de dahil olmak üzere geniş türde moleküler hasara neden olur [35]. Bu hasarlar yaşlanma süreci ve kardiyovasküler hastalıklar, renal fonksiyon bozuklukları, nörolojik hastalıklar, kanser, kas ve karaciğer hastalıkları gibi birçok patolojik duruma sebebiyet verebilmektedir [36]. Oksidatif stres bir hastalık değildir fakat bir çok hastalığa yol açabilecek ya da hastalığı hızlandırabilecek bir etkidir. Oksidatif stresi tehlikeli kılan durum herhangi bir semptomunun olmamasıdır. Bu durum belirlenemediği takdirde oldukça tehlikeli sağlık sorunlarına neden olabilir [37]. Kısa süreli oksidatif stres, travma, enfeksiyon, ısı yaralanması, toksinler ve aşırı egzersiz nedeniyle yaralanan dokularda oluşabilir. Bu hasar gören dokular, artmış radikal üreten enzimler (örneğin, XOD, lipogenaz, siklooksijenaz), fagositlerin aktivasyonu, serbest demir ve bakır iyonlarının salınması veya oksidatif fosforilasyonun elektron taşıma zincirlerinin bozulmasıyla aşırı ROS üretirler. Kanserin başlamasında ve ilerlemesinde kemoterapi ve radyasyonun yan etkisinin bir sonucu olarak bozulan ROS ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik de etkilidir. Diabetes mellitus, yaşla ilişkili göz hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasında da bu dengesizlik etkilidir [38].



Şekil 2.7. Oksidan-antioksidan denge [39].

2.2.1. Hastalıkların oluşmasında oksidatif stresin rolü ve oksidatif stresle ilişkili hastalıklar

Çeşitli klinik durumların oluşmasında oksidatif stresin oynadığı rolle ilgili artan bir farkındalık söz konusudur. Kötü huylu hastalıklar, diyabet, ateroskleroz, kronik iltihaplanma, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, iskemik reperfüzyon hasarı ve uyku apnesi önemli örneklerdir. Bu hastalıklar iki temel kategoriye ayrılır. Birinci kategoride yer alan diyabet ve kanser genellikle iskelet kası mitokondrilerinin yüksek ROS üretiminin ana bölgesi olabileceğini düşündüren sistemik tiyol/disülür redoks durumundaki pro-oksidatif değişimi ve bozulmuş glukoz klerensini gösterir. Bu koşullar mitokondriyal oksidatif stres olarak adlandırılabilir. Terapötik müdahale olmaksızın bu koşullar yaşlanmayla bağlantılı ağır iskelet kası kaybına neden olur. İkinci kategoriden “inflamatuvar oksidatif koşullar” olarak bahsedilebilir çünkü tipik olarak NAD(P)H oksidaz aktivitesinin sitokinler veya diğer etmenler tarafından aşırı bir uyarımı ile ilişkilidir. Bu durumda artmış ROS seviyeleri veya hücre içi glutatyon (GSH) düzeylerindeki değişiklikler genellikle hücre adezyon moleküllerinin değiştirilmiş ekspresyonu ile örneklenen sinyal kaskadlarının ve/veya gen ekspresyonunun düzensizliğinin belirtisi olan patolojik değişikliklerle ilişkilidir [15].

2.2.1.1. Kanser ve oksidatif stres

ROS potansiyel kanserojenlerdir, çünkü mutajenezi, tümörün ilerlemesini ve progresyonunu kolaylaştırırlar. Normal hücreler bile, hidrojen perokside veya süperokside

maruz kaldıklarında sıklıkla çoğalma ve büyüme ile ilişkili genlerin ekspresyonunu gösterirler. Ek olarak, bazı kanser hücreleri önemli miktarda ROS üretirler. ROS üreten malign hücrelerde kontrolsüz hücre büyümesi ve normal hücrelerde ROS ile indüklenen yaşlanma arasındaki belirgin tutarsızlık, ROS üretiminin gerekli olabileceğini ancak malign hücre büyümesini indüklemek için yeterli olmadığını düşündürmektedir [15]. Çeşitli tipte ilerlemiş maligniteleri olan hastalarda plazma tiyol/disülfür redoks durumundaki pro-oksidatif kayma gözlenmiştir [40]. Bu değişim diabetes mellitus, yaşlılık ve yoğun fiziksel egzersizdeki benzer değişiklikleri hatırlatır. Kanser hastaları genellikle glukoz klirensinde azalma ve anormal derecede yüksek glikolitik aktivite ve laktat üretimine sahip olduklarından, gözlemlenen pro-oksidatif kaymanın, mitokondriyal enerji substratının artan ve temel olarak kontrol edilemeyen varlığına aracılık ettiğini varsaymak mantıklı bir düşünce olarak kabul edilebilir [15].

2.2.1.2. Diabetes mellitus ve oksidatif stres

ROS üretimindeki artış ateroskleroz ve diğer vasküler komplikasyonlar gibi diyabetik komplikasyonların gelişimine katkıda bulunur. Yükselmiş ROS seviyeleri de diabetes mellitus'ta rol oynamaktadır. Hiperglisemi, insüline bağımlı olmayan (tip 2) ve insüline bağımlı diabetes mellitusun (tip 1) bir göstergesidir. Yüksek glukoz seviyeleri, birçok farklı mekanizma ile artan ROS üretimi ile ilişkilidir. Kültürü yapılmış sığır aort endotel hücrelerinde, hipergliseminin mitokondriyal kompleks II'de artmış ROS üretimine neden olduğu gösterilmiştir. Mitokondriyal ROS üretimini iyileştiren birkaç bağımsız uygulamanın, protein kinaz C veya NF-kB'nin aktivasyonu ve gelişmiş glikasyon son ürünlerinin oluşumu dahil olmak üzere, hastalığın tipik ikincil komplikasyonlarının bir kısmını önlediği gösterilmiştir. Antioksidanlarla tedavi endotel hücrelerin disfonksiyonu veya artmış trombosit agregasyonu dahil olmak üzere diyabetik komplikasyonların iyileşmesine yardım eder [15].

2.2.1.3. Kardiyovasküler rahatsızlıklar ve oksidatif stres

Kardiyovasküler hastalıklar hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara, diyabet, zayıf beslenme, stres ve fiziksel hareketsizlik gibi çeşitli risk faktörleri ile ilişkili multifaktöriyel bir etiyolojiye sahiptir. Son zamanlarda elde edilen araştırma verileri, oksidatif stresin birçok kardiyovasküler hastalığın primer veya sekonder sebebi olup olmadığı konusunda çeşitli tartışmaları gündeme getirmiştir. Yapılan in vivo ve ex vivo çalışmalar, ateroskleroz, iskemi, hipertansiyon, kardiyomyopati, kardiyak hipertrofi ve konjestif kalp yetmezliği gibi bir dizi kardiyovasküler hastalıkta oksidatif stresin rolünü destekleyen değerli kanıtlar sağlamıştır (3).

Ateroskleroz genellikle kronik bir inflamatuvar hastalık olarak görülür ve hiperlipidemi, diyabet ve hipertansiyon gibi bazı risk faktörleri ile ilişkilidir. Aşırı ROS üretimi ateroskleroz ve hipertansiyonun patogenezinde rol oynamaktadır [15].

2.2.1.4. Nörolojik rahatsızlıklar ve oksidatif stres

Down sendromu veya trizomi 21, mental retardasyonun en sık görülen genetik sebebidir ve genellikle yetişkin hayatında Alzheimer hastalığının gelişimi ile ilişkilidir. Fetal down sendromu vakalarından ve kültürü yapılmış kortikal nöronlar yaşa göre eşleştirilmiş normal beyin hücrelerinden üç ila dört kat daha fazla ROS içerir. Serbest radikal temizleyiciler veya CAT ile tedavi, kültürde down sendromu nöronlarının dejenerasyonunu engeller (41). Alzheimer hastalığı, ilerleyen yaygın nöronal kayıpla ve bilişsel işlevlerde azalma ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Etkilenen hastaların beyinlerinde çok sayıda amiloid plakları ve nörofibriler yumaklar görülür. Alzheimer hastalarının beyinlerinde ROS üretimi ve bunun Alzheimer patogenezindeki etkisi, beyinde saptanan önemli miktarda lipit peroksidasyonunun yanı sıra Alzheimer hastalarının postmortem beyin-omurilik sıvısında bulunan artmış 4-hydroxynonenal düzeyiyle ilişkilidir. Ayrıca, ROS'un amiloid b-protein hasarına aracılık ettiği bulunmuştur [15].

2.2.1.5 Böbrek hasarı ve oksidatif stres

Oksidatif stres, glomerulonefrit ve tubulointerstisyel nefrit, kronik böbrek yetmezliği, proteinüri, üremi gibi çeşitli böbrek hastalıklarında rol oynar. Siklosporin, takrolimus (FK506), gentamisin, bleomisin, vinblastin gibi bazı ilaçların nefrotoksitesisi esas olarak lipit peroksidasyonu yoluyla oksidatif strese bağlıdır. Ağır metaller ve geçiş metallerinin neden olduğu farklı nefropati ve karsinojenite formları, vücutta güçlü serbest radikal indükleyicileridir [3].

2.2.1.6 Romatoid artrit ve oksidatif stres

İmmün reaktivitenin proksidatif koşullar ile arttırılması, bağışıklık sisteminin hızla çoğalan patojenleri kontrol altına alması ve yenmesi için kritik öneme sahiptir, fakat bu artış aynı zamanda otoimmün süreçleri indüklemeye riskini de taşımaktadır [15]. Romatoid artrit, makrofajların ve aktive edilmiş T hücrelerinin infiltrasyonu ile eklemlerin etrafında eklem ve dokuların kronik inflamasyonu ile karakterize sistemik otoimmün bir hastalıktır. İnflamasyon bölgesinde serbest radikallerin üretiminin bu hastalığın patogenezinde kesin olarak katkıda bulunabileceğini gösteren çeşitli kanıtlar vardır [3,15]. Çeşitli romatizmal hastalıklarda oksidatif

hasar ve inflamasyon, serum ve sinovyal sıvıdaki artmış izoprostan ve prostaglandin düzeyleri ile kanıtlanmıştır [42].

2.3. Akrilonitril

2.3.1. Akrilonitril fiziksel ve kimyasal özellikler

Akrilonitri ($\text{CH}_2=\text{CHCN}$), hammadde olarak akrilik elyaf, plastik, sentetik kauçuk, yapıştırıcılar ve akrilamid üretiminde yaygın olarak kullanılan, $77.5-79.68^\circ\text{C}$ 'de kaynayan, -83.58°C 'de eriyen, uçucu, sıvı özellikte keskin kokuya sahip, renksiz, berrak ve toksik bir monomerdur [43-45]. Su, aseton ve benzende çözünür ve etanol ve eter ile karışabilir. Reaksiyonları nitril grubunun ve $\text{C}=\text{C}$ çift bağının varlığı ile karakterize edilir [45].

2.3.2. Akrilonitril üretimi ve kullanımı

İlk olarak 1893 yılında akrilonitril ilk, akrilamid veya etilen siyanohidrinin fosfor pentoksit ile dehidrasyonu ile üretildi. 1960 yılına kadar, akrilonitril ticari olarak hidrojen siyanüre ve etilen oksite veya asetilene dayalı işlemlerle üretildi [46]. Akrilonitril, artık propilen, amonyak ve havanın bir katalizör varlığında reaksiyona sokulduğu ve ardından damıtma ile devam eden Sohio prosesi ile üretilmektedir. Akrilonitril üretiminde kullanılan bir diğer sentez, asetilen ve hidrojen siyanürün doğrudan reaksiyonunu içerir. Akrilonitril, kolorimetri, gaz kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve polarografi ile analiz edilebilir. Su, aseton ve benzende çözünür ve etanol ve eter ile karışabilir. Reaksiyonları nitril grubunun ve $\text{C}=\text{C}$ çift bağının varlığı ile karakterize edilir. ABD, dünya üretiminin yaklaşık %30'unu oluşturan en büyük akrilonitril üreticisi konumundadır, ancak son zamanlarda Tayland ve Güney Kore gibi Asya ülkeleri de akrilonitril üretimini büyük ölçüde artırmıştır. Çin gibi ülkelerde pamuk tarlalarının yerini giderek gıda üretilen tarlalar almaktadır. Bu faktörler dünyada akrilonitrile olan talebi artırmaktadır. Üretilen akrilonitrilin yaklaşık %40'ı giysi ve döşemelerin üretiminde kullanılan akrilik ve modakrilik elyafların üretimi için kullanılır. Yaklaşık %28'i, çeşitli ev eşyalarında, boru bağlantı elemanlarında ve araçlarda kullanılan akrilonitril-butadien-stiren ve stiren-akrilonitril reçinelerinin hazırlanmasına hizmet eder. %15'i bir naylon üretim aracı olan adiponitrile dönüştürülür ve geri kalanı, akrilamid, nitril elastomerler, bariyer reçineleri ve çeşitli özel kimyasalların üretiminde kullanılır [45].

2.3.3. Akrilonitrile maruziyet

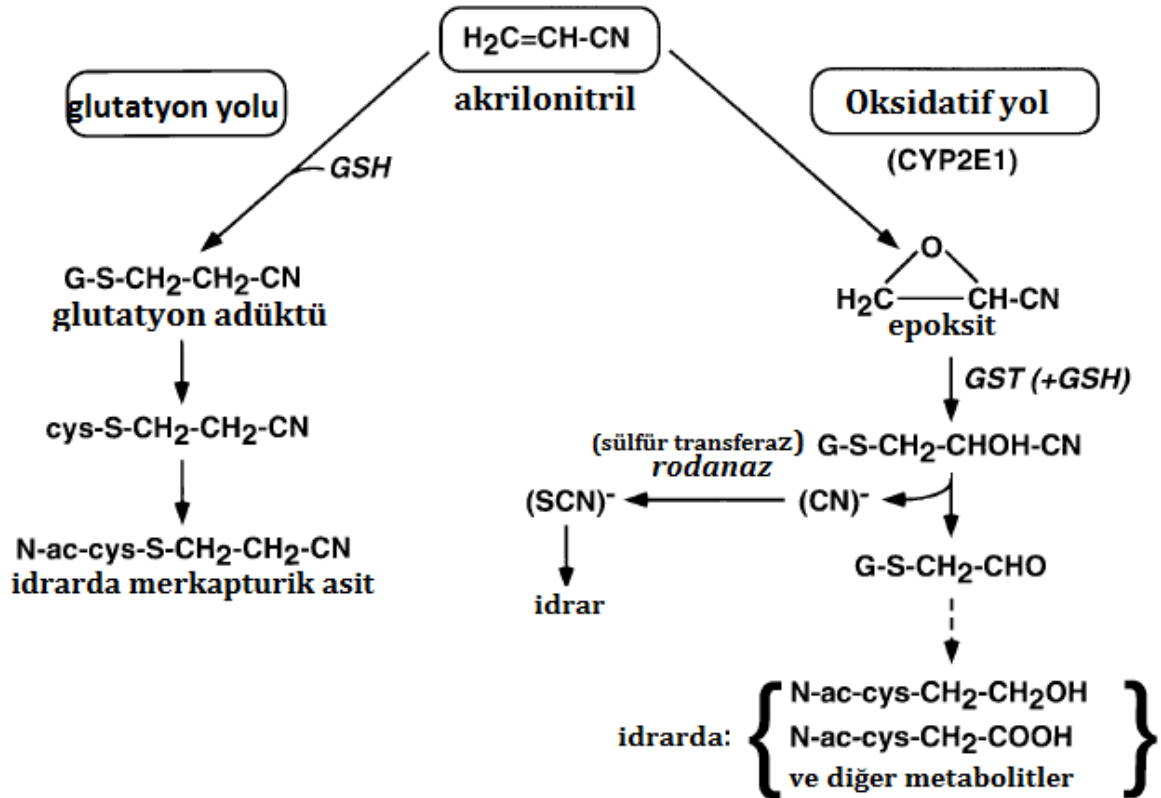
Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Çevreyi Koruma Ajansı (EPA) akrilonitrili su ve tehlikeli hava kirletici uçucu bir organik bileşim olarak sınıflandırmıştır. Ortamdaki akrilonitril, havada hızla ve biraz daha yavaş olmak üzere suyla parçalanır. Bu yüzden, çevrede bulunan akrilonitrile maruz kalan nüfus, fabrikalar veya atık sahaları dışında çok fazla değildir. Fabrikaların yakınındaki hava konsantrasyonları genel olarak 1 ppb'nin altındadır. Bununla birlikte, akrilonitrile maruz kalma, liflerdeki ticari polimerik malzemedeki kalıntı akrilonitrilden de meydana gelebilir. Ayrıca sigara dumanında da tespit edilmiştir. İşçilerin akrilonitrile maruz kalması, akrilonitril sentezinden ticari ürünlere kadar tüm aşamalarda ortaya çıkabilir [45]. ABD İş Sağlığı ve Güvenliği İdaresi işçilerin akrilonitrile maruziyetini havada 2 ppm'e kadar işgününün herhangi bir bölümünde aşılmamış olabilecek tavan konsantrasyonu da 10 ppm'e kadar sınırlandırır. Almanya Federal Cumhuriyeti sağlık otoriteleri, hiçbir eşik limiti bulunmayan karsinojenik kimyasallar kategorisine akrilonitrili yerleştirmiştir. Plastik kapların 0.17 ppb'den fazla akrilonitrili gıdaya bırakmasına izin verilmez [47].

2.3.4. Akrilonitrilin toksisitesi

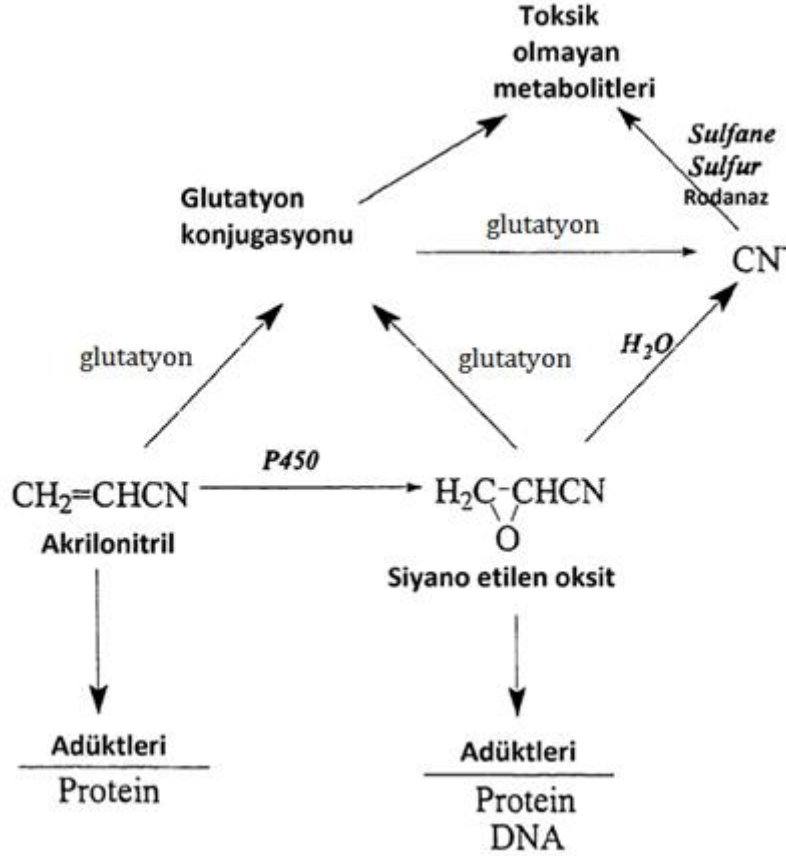
Akrilonitril, insan vücuduna beslenme, inhalasyon ve cilt yoluyla girebilir. Akrilonitrilin akut yüksek düzeyde alımını takiben semptomlar çok spesifik değildir ve akrilonitrilin merkezi sinir sistemine, mide-bağırsak sistemine ve adrenallere toksisitesi ilgilidir. Akrilonitrilin toksik semptomlarının görülebilmesi, siyanürün yavaş oluşumu ve glutatayonun tükenmesi olmak üzere iki temel metabolik özelliğe bağlıdır. Hepatositlere in vitro ortamda yüksek O₂ gerilimi altında akrilonitril uygulanması, hızlı bir GSH ve lipit peroksidasyonuna neden olur. Akrilonitril ayrıca sıçanların karaciğerlerinde lipoperoksidasyona neden olur [45]. Karaciğer akrilonitril metabolizmasının ana bölgesi olmasına rağmen, akciğer epitel hücreleri de akrilonitrili 2-siyanoetilen oksit (CEO)'e metabolize edebilir [48]. Buna ek olarak, inhale edilen akrilonitril, sıçan akciğerinde belirgin bir GSH azalmasına neden olur ve sıçan alveolar makrofajlarında oksidatif stresi artırır. Ayrıca, mesleki olarak akrilonitrile maruz kalan kişilerin eritrositlerinde lipit peroksidasyonu bildirilmiştir. Akrilonitril kaynaklı GSH tükenmesinin kolinerjik reseptörleri etkilediği ve bu şekilde sıçanlarda mide nekrozuna ve adrenal nekroza neden olduğu düşünülmektedir. Akrilonitril de dahil olmak üzere çeşitli ajanlara maruz kalan işçiler, hepatik GSH düzeylerinde azalma, hafif düzeyde karaciğer fonksiyon değişiklikleri ve bazen de testosteron düzeylerinde azalma göstermişlerdir [45].

2.3.5. Akrilonitrilin metabolizması

Akrilonitrilin metabolize edilmesinde üç yol vardır (Şekil 2.8.). İlk olarak, akrilonitril, P450 ile CEO arasında oksidatif biyotransformasyona uğrayabilir ve ardından siyanür (CN) salınabilir. Metabolik olarak salınan siyanür, moleküler bazda akrilonitrilden 10 kat daha toksiktir ve öldürücüdür. Oksidatif yoldan çok reaktif bir ara metabolit olan siyanoetilenoksit, DNA ile reaksiyona girebilir ve akrilonitrilin kanserojenliğine bağlı olarak DNA hasarına neden olabilir. İkinci yol, akrilonitril, proteinlerde tiyol gruplarıyla non-enzimatik olarak reaksiyona girebilir. Protein tiyoller, protein katlanması, enzim katalizi ve metabolik regülasyon dahil olmak üzere bazı hücresel işlevlerde çok önemli bir role sahip olabilir. Bu nedenle, bu tiyol gruplarında kovalent modifikasyon birçok önemli enzimin ve proteinin inaktivasyonuna yol açabilir. Bu kovalent bağlanma, akrilonitrilin akut toksisitesinde önemli bir role sahip olabilir. Üçüncü yol olarak, akrilonitril aynı zamanda enzimatik ve enzimatik olmayan şekilde çözünebilir sülfhidril grupları ile reaksiyona girebilir ve bu reaksiyon GSH'nin tükenmesinden sorumludur. GSH, hücresel antioksidan savunmada önemli bir bileşen olduğundan, tükenmesi, tüm dokularda oksidatif hasara karşı hücreleri savunmasız bırakabilir [49].



Şekil 2.8. Akrilonitrilin metabolizması [50].



Şekil 2.9. Akrilonitril metabolizması [49].

2.3.5.1. Oksidatif yol

Akrilonitrilin oksidatif metabolizmasının, karaciğer ve muhtemelen diğer dokulardaki sitokrom p450 enzimleri tarafından katalize edilir. Oksidatif yoldan salınan siyanür, tiyosiyanat oluşturmak için rodanaz yolu ile detoksifiye edilir [50]. İn vitro çalışmalar, bir karaciğer homojenatı eklenene kadar akrilonitrilin siyanüre biyotransformasyonunun olmadığını göstermiştir. Bu reaksiyon NADPH ve O₂'e bağımlıdır. NADPH yokluğunda, siyanür saptanabilir düzeyde değildir, buna karşılık O₂ yokluğunda, siyanür oluşumu %79 oranında daha azdır.

Akrilonitrilin siyanüre oksidatif biyotransformasyonu siyanoetilenoksit ara maddesi üzerinden yürür. CEO, yaklaşık 99 dakikalık yarı ömrü ile fizyolojik koşullar altında oldukça kararlıdır. CEO Siyanürü serbest bırakmak için su ile hidrolize edilebilir, GSH ile konjugasyona uğrar ya da protein ve DNA ile reaksiyona girerek adüktler oluşturabilir. CEO'in hidroliziyle oluşan olası metabolitleri siyanoetandiol ve asetik asittir [49]. İnhibitörlerle yapılan çalışmalar, kemirgenler ve insanlar arasında farklılıklar olmasına rağmen, epoksit hidrolazın bir katalizör olduğunu göstermiştir. Epoksit hidrolaz, siyanoetilenoksitin hidrolizini, kendiliğinden glikolaldehit ve hidrojen siyanürü ayırıştırıcı bir siyanohidrine katalize edebilir [51]. GSH konjugasyonunun hem

akrilonitril hem de siyanoetilenoksit için ana eğilim yolu olduğu düşünülmektedir [52]. Akrilonitrilin sıçanlardaki karsinojenliğinin siyanoetilenoksit oluşumuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Siyanoetilenoksit metabolik aktivasyon olmaksızın mutajen iken, akrilonitril sadece karaciğer mikrozomlarının varlığında mutajendir. Akrilonitrilin toksik metaboliti olan siyanür toksik olmayan bir bileşik olan tiyosiyanat oluşturmak üzere rodanaz yolu boyunca sülfür eklenerek detoksifiye edilir. Siyanürden tiyosiyanat oluşumunda hız kısıtlayıcı faktör bu reaksiyonu katalizleyen rodanaz enziminden çok kükürtün kullanılabilirliğine bağlıdır. Tiyosiyanatın oluşumu, akrilonitrilin yüzde kaçının siyanüre metabolize olduğunu tahmin etmek için bir biyobelirteçtir [49].

2.3.5.2. Non-Oksidatif yol

2.3.5.2.1. Doku proteinlerine kovalent bağlanma

Akrilonitril, proteinlerde -SH grupları ile enzimatik olmayan reaksiyona girebilir. Akrilonitrilin proteine bağlanma reaksiyonu NADPH gerektirmediğinden sitokrom p450 den bağımsızdır. Akrilonitrilin proteine kovalent bağlanması doza bağımlıdır. Kovalent olarak değiştirilmiş proteinler, ölçülen tüm dokularda, yani kan, karaciğer, böbrek, böbreküstü bezleri, glandüler mide ve mide sıvısında bulunur [49].

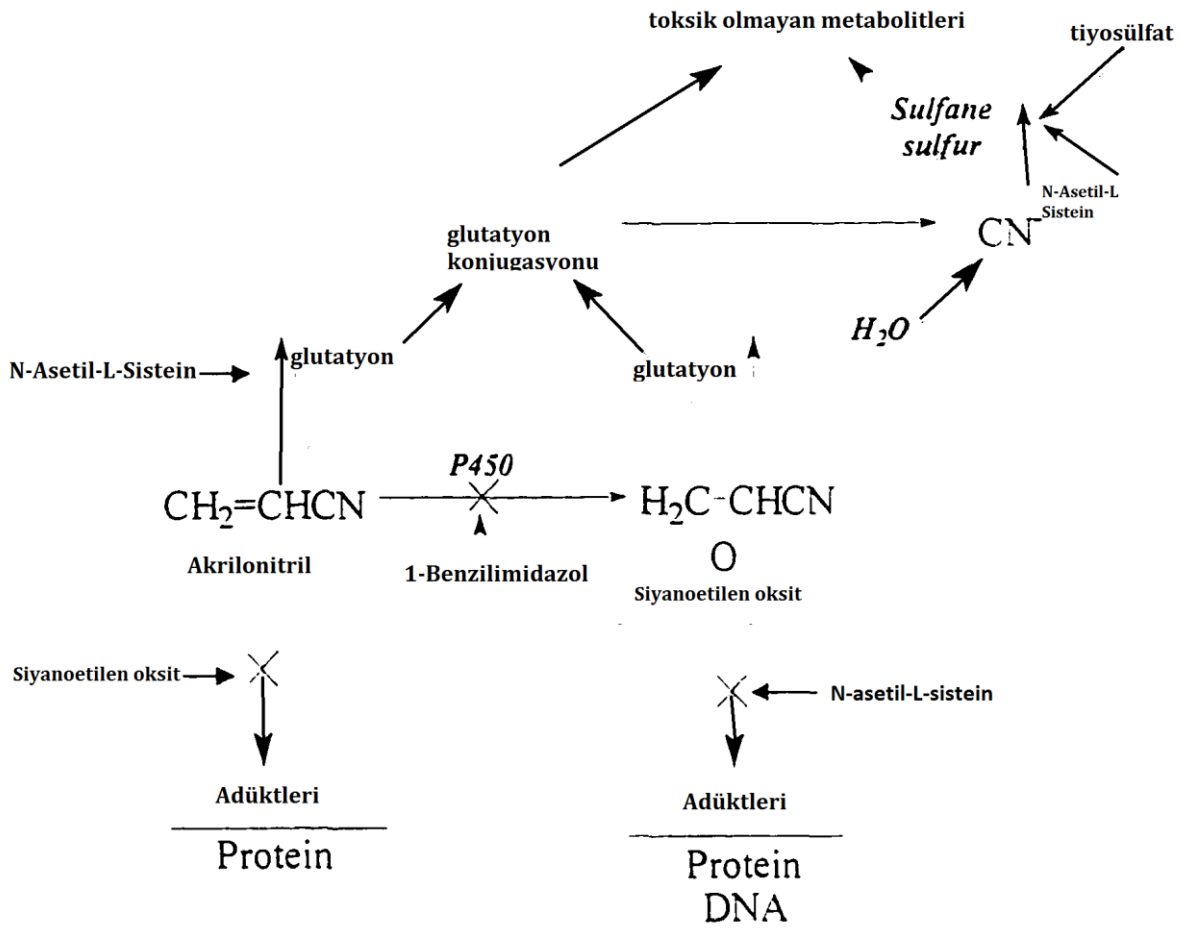
2.3.5.2.2. Glutatyonun tükenmesi

Glutatyon, L-glutamat, L-sistein ve glisin olmak üzere üç amino asitten oluşan bir tripeptittir. Dokularda her yerde bulunur ve toplam hücre içi tiyollerin %90-95'ini oluşturur [53]. Bir nükleofil olarak, GSH elektrofilik bileşikler ile reaksiyona girebilir ve burada oksidan ve serbest radikallerden hücrelerin korunmasında önemli bir rol oynayabilir. GSH konsantrasyonu günlük ritimden etkilenir [54]. Sabah en yüksek seviyelere ulaşır. Akrilonitril enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla birçok dokuda protein içindeki GSH ve sülfhidril gruplarının tükenmesine yol açan çözünebilir tiyol grupları ile reaksiyona girebilir. GSH ile reaksiyon, akrilonitril için ana metabolik yoldur ve akrilonitrilin detoksifikasyonunda bu yol kullanılır. Bu reaksiyon toksik olmayan bir bileşik olan siyanoetillenmiş merkapturik asit üretimi ile sonuçlanır. GSH'nin tükenmesi ölümcül olmamakla birlikte, artmış siyanür seviyeleri ve detoksifikasyon enzimlerinin kovalent modifikasyonunun artması, homeostazın bozulmasını tetikleyebilir ve sonunda hücresel hasara ve sonunda organ yetmezliğine yol açabilir [49].

2.3.6. Akrilonitrilin antidotları

Reaktif akrilonitril molekülünün, kovalent bağlanmaya, GSH havuzunun indirgenmesine veya biyotransformasyonu sırasında oluşan reaktif ara maddelerin etkisine bağlı olarak akrilonitril toksisitesi üzerinde bir etkisi olduğu açıktır. GSH tükenmesi oksidatif doku hasarı ile sonuçlanabilir, ancak tek başına akut toksisiteyi açıklayamaz [49]. Mevcut endüstriyel hijyen uygulamaları, normal mesleki prosedürler sırasında AN'ye maruz kalmayı sınırlayabilir. Bununla birlikte, yüksek seviyelerdeki kazara maruz kalma, akrilonitrilin üretim, ulaşım ve son kullanımında yer alan bireylerin sağlığını ciddi şekilde etkileyebilir [55]. Ne yazık ki, akrilonitril zehirlenmesi için şu anda önerilen antidotal tedavi sadece siyanür bileşeninin yönetimine odaklanmaktadır ve akrilonitrilin doğal toksik etkileri hesaba katılmadığı için etkinlikten yoksundur [49].

Sodyum tiyosülfat, metionin ve sistein, siyanürün, böbrek tarafından kolaylıkla atılabilen toksik olmayan bir bileşik olan tiyosiyana dönüşürülmesi için gerekli olan kükürtü sağlayabilir. Bu reaksiyon için katalizör, rodanaz enzimidir. Bununla birlikte, bu detoksifikasyon için sınırlayıcı faktör, vücutta kolayca bulunabilen sülfür havuzudur. Diğer yandan, sodyum nitrit, hemoglobini methemoglobine dönüştürerek etkisini gösterir. Kandaki siyanür, daha sonra siyanomethemoglobin oluşturmak üzere methemoglobine bağlanabilir. Bu serbest siyanür konsantrasyonunu düşürür. Zamanla siyanür yavaş yavaş methemoglobinden ayrışır ve rodanaz tarafından tiyosiyana dönüştürülür [55]. L-cysteine N-acetyl-L-sisteine (LNAC) ve GSH gibi tiyol içeren antidotlar şimdiye kadar araştırılan en iyi antidotlardır [49].



Şekil 2.10. Akrilonitrilin antidotlarının mekanizması [49].



Şekil 2.11. Çalışmada kullanılan akrilonitril

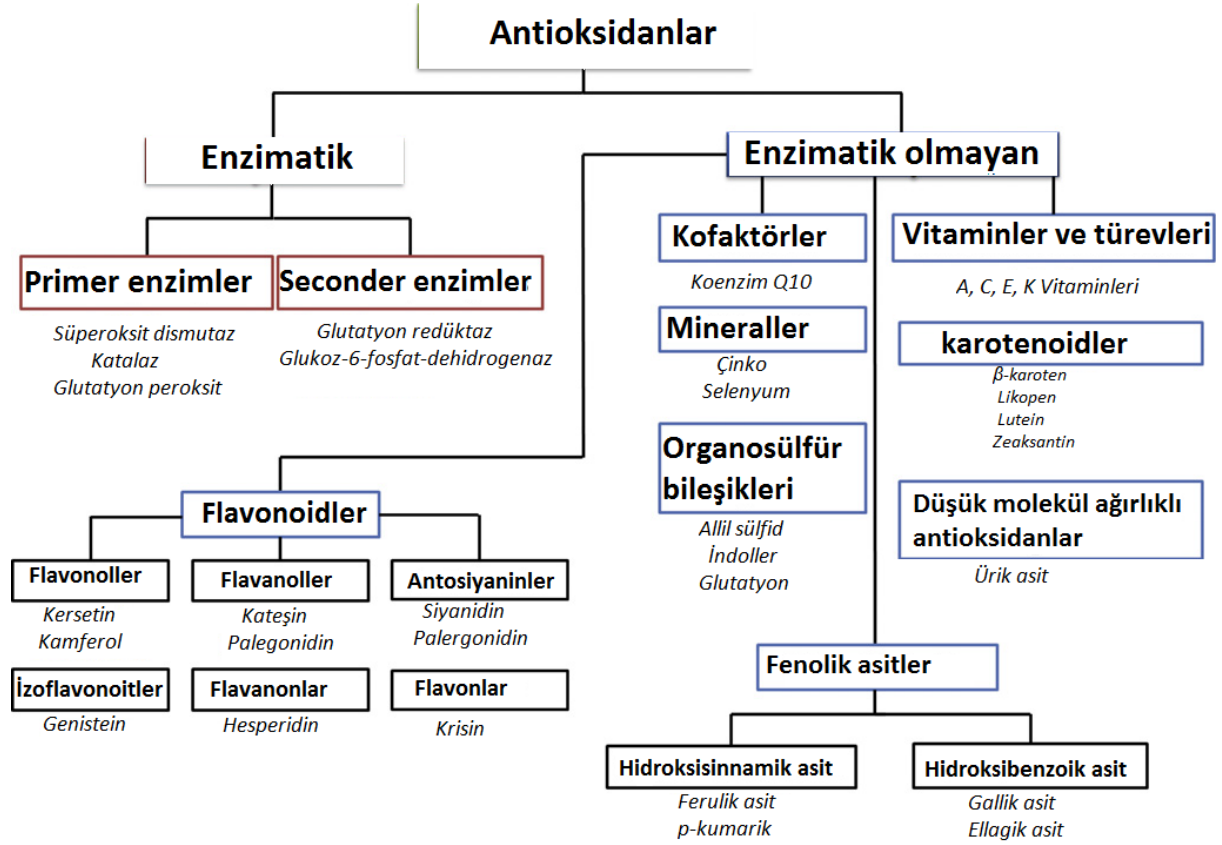
2.4. Antioksidan savunma sistemleri

Oksijen hayat için vazgeçilmez bir elementtir. Hücreler enerji üretmek için O_2 kullandığında, mitokondri tarafından ATP (adenosin trifosfat) üretiminin bir sonucu olarak serbest radikaller oluşur. Bu yan ürünler, genellikle hücresel redoks işleminden kaynaklanan ROS'dur. Bu türler hem toksik hem de faydalı bileşikler olarak ikili rol oynarlar. Bu nedenle, bu iki karşıt etki arasındaki hassas denge açıkça hayatının önemli bir yönüdür. ROS düşük veya orta seviyelerde, hücresel yanıtlar ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde yararlı etkiler gösterir; yüksek konsantrasyonlarda ise, tüm hücre yapılarına zarar verebilen oksidatif stres gibi zararlı bir süreç oluştururlar [56]. Çeşitli kaynaklardan serbest radikallere maruz kalmak, organizmaları bir dizi

savunma mekanizması geliştirmeye yönelmiştir [57]. İnsan vücudu, doğal olarak (endojen) üretilen veya gıdalar (eksojen) yoluyla dışarıdan sağlanan antioksidanlar ile oksidatif stresi önlemeye yönelik çeşitli mekanizmalara sahiptir [56]. Serbest radikal kaynaklı oksidatif strese karşı savunma mekanizmaları önleyici mekanizmalar, onarım mekanizmaları, fiziksel savunmalar ve antioksidan savunmalar olmak üzere dört çeşittir [57].

2.4.1. Antioksidanların sınıflandırması

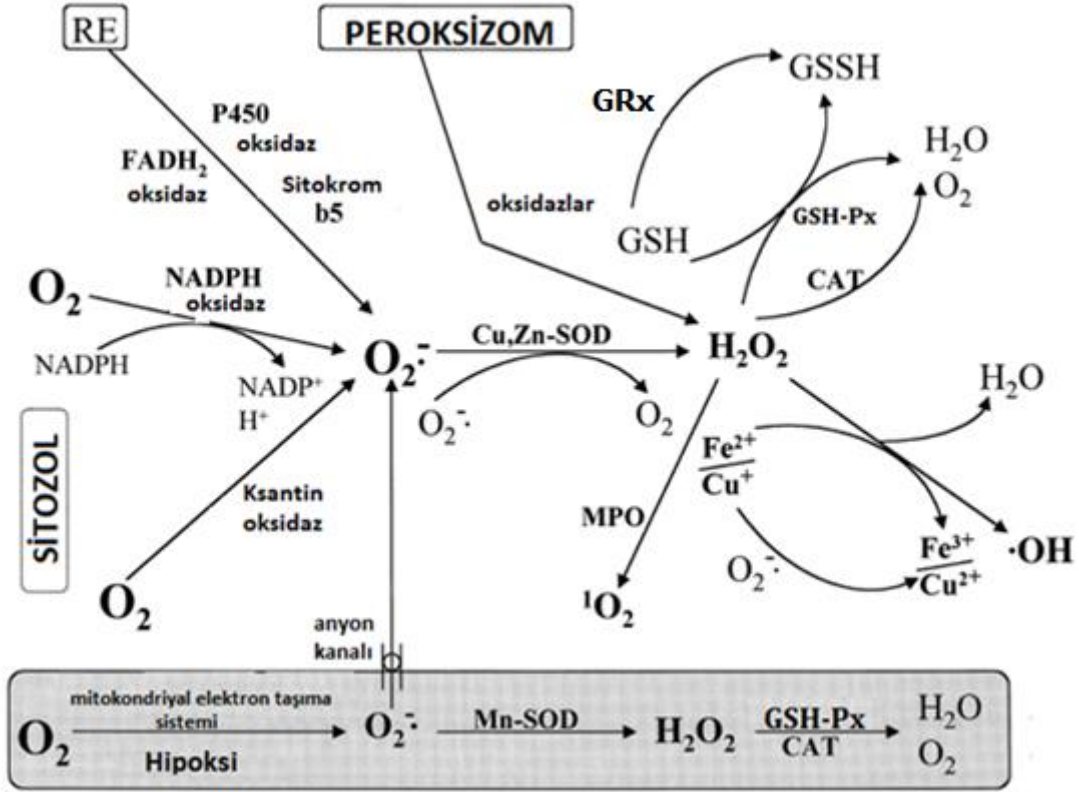
İnsan antioksidan sistemi, enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır (antioksidan review). ROS'un nötrleştirilmesinde doğrudan rol oynayan başlıca enzimatik antioksidanlar şunlardır: SOD, CAT, GSH-Px ve GRx. Serbest radikallere karşı ilk savunma hattı olan SOD, süperoksit anyon radikalinin ($O_2 \bullet^-$) azaltılmasının H_2O_2 'e dönüştürülmesini katalize eder [56]. Enzimatik olmayan antioksidanlar ayrıca metabolik antioksidanlar ve besinsel antioksidanlara ayrılır. Endojen antioksidanlara ait olan metabolik antioksidanlar, vücutta lipoid asit, GSH, L-arjinin, koenzim-Q10, melatonin, ürik asit, bilirubin, metal şelatlama proteinleri, transferrin, vb'dir. Eksojen antioksidanlara ait olan besinsel antioksidanları vücutta üretilmeyen ve E vitamini, C vitamini, karotenoidler, iz metaller (selenyum (Se), manganez (Mn), Zn), flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri gibi gıda veya takviyelerle sağlanabilen bileşiklerdir. Besin antioksidanlarının ROS'un detoksifikasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir [58] ve oksidatif stresin nötralizasyonu için endojen antioksidanlara yardımcı olarak önemli bir rol oynarlar [56].



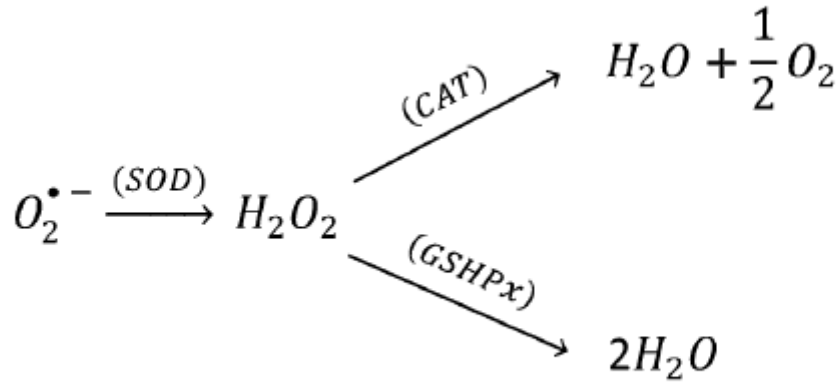
Şekil 2.12. Antioksidan sınıflandırma [59].

2.4.2. Enzimatik antioksidanlar

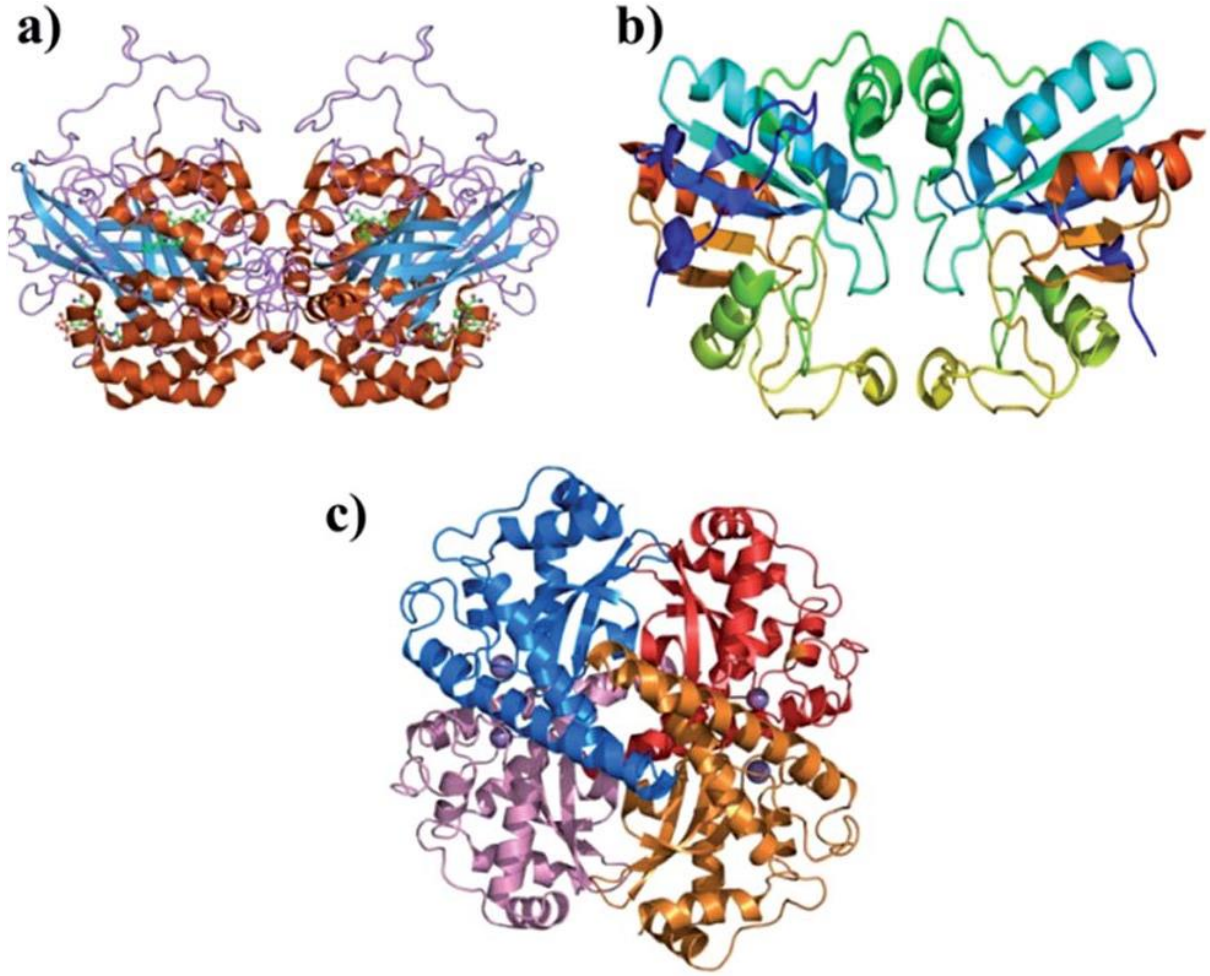
Enzimatik antioksidanlar ile ilgili olarak bunlar birincil ve ikincil enzimatik savunmalara ayrılır. Birincil savunmayla ilgili olarak, serbest radikallerin oluşumunu engelleyen veya nötralize eden üç önemli enzimden oluşur: peroksitleri azaltmak için selenoller oluşturarak iki elektron bağışlayan ve ayrıca Fenton reaksiyonu için potansiyel substrat olarak peroksiti yok eden GSH-Px; H_2O_2 'yi suya ve moleküler O_2 'ye dönüştüren CAT; ve son olarak SOD süperoksit anyonlarını CAT için bir substrat olan H_2O_2 'e çevirir [60].



Şekil 2.13. ROS'un oluşumu ve bunlara karşı savunma mekanizması, MPO=miyeloperoksidaz, GRx= Glutasyon redüktaz [61].



Şekil 2.14. SOD, CAT ve GSH-Px'in radikal süpürücü aktivitesi [24].



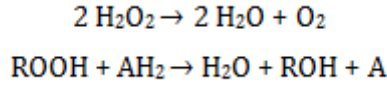
Şekil 2.15. a) Katalaz, b) Glutatyon peroksidaz, c) Süperoksit dismutaz [24].

2.4.2.1. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Hidrojen peroksit ve membran lipid peroksidasyonu sonucu oluşan LOOH'lerin azaltılmasından sorumlu olan redoks döngüsündeki enzimler arasında GSH-Px'ler de bulunur [62]. GSH-Px'ler, aktif bölgeler içinde özgün amino asit selenosisteinini ihtiva eden ve H_2O_2 ve lipid peroksitleri bunlara karşılık gelen alkollere indirgemek üzere, GSH gibi düşük moleküler ağırlıklı tiyoller kullanan bir tetramerik enzim ailesidir. Farklı genler tarafından kodlanan dört farklı GSH-Px vardır: GSH-Px-1 (hücrel GSH-Px) her yerde bulunur ve H_2O_2 ve yağ asidi peroksitlerini azaltır, ancak esterlenmiş peroksil lipidleri azaltmaz [63]. Esterleştirilmiş lipidler, indirgeyici eşdeğer olarak birkaç farklı düşük moleküler ağırlıklı tiyol kullanabilen membrana bağlı GSH-Px-4 (fosfolipit hidroperoksit GSH-Px) ile azaltılır. GSH-Px-2 (gastrointestinal GSH-Px), gastrointestinal epitelyal hücrelerde lokalize olup diyet peroksitlerini azaltmaya hizmet eder. GSH-Px-3 (hücre dışı GSH-Px), hücre dışı bölgede bulunan ve memelilerde en önemli ekstraselüler antioksidan enzimden biri olduğuna inanılan GSH-Px ailesinin tek üyesidir. Hücre dışı GSH-Px yaygın olarak insan akciğerinde incelenmiştir [64].

2.4.2.2. Katalaz (CAT)

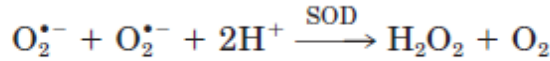
Katalaz, her bir alt birim için tek bir ferriprotoporfirin grubu içeren tetrahedral olarak düzenlenmiş dört özdeş alt birimden oluşan tetramerik bir enzimdir. CAT ve peroksidaz aktivitesine sahip H donörleri (metanol, etanol, formik asit veya fenoller) su ve moleküler oksijen oluşturmak üzere H₂O₂ ile çok etkili bir şekilde reaksiyona girer [61];



Hayvanlarda H₂O₂ CAT ve GSH-Px tarafından detoksifiye edilir. CAT, hücreleri içlerinde üretilen H₂O₂'e karşı korur. Her ne kadar CAT normal koşullar altında bazı hücre tipleri için gerekli olmasa da, hücrelerin adaptif yanıtında oksidatif strese karşı toleransın kazanılmasında önemli bir rol oynar [65].

2.4.2.3. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, yüksek oranda reaktif süperoksit anyonunun O₂'ye ve daha düşük oranda reaktif olan H₂O₂'ye değişmesini katalize eden antioksidan enzimdir. Peroksit CAT veya GSH-Px reaksiyonları ile yok edilebilir [61].



Şekil 2.16. SOD'nin antioksidan etkisi [61]

İnsanlarda, sitosolik Cu/Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve hücre dışı SOD (EC-SOD) olmak üzere üç tür SOD vardır. SOD, belirgin bir şekilde yüksek reaksiyon hızlarına sahip bir Ping Pong tipi mekanizmada aktif bölgedeki geçiş metali iyonunun ardışık oksidasyonu ve indirgenmesiyle O₂^{•-}'yi yok eder (66).

Mn-SOD:

Mn-SOD, süperoksit başına bir Mn atomu ihtiva eden ve iki kademeli süperoksit değişimi sırasında Mn (III) 'den Mn (II)' ye ve tekrar Mn (III)'e dönüşen bir homotetramerdir. Mitokondriyadaki solunum zinciri, önemli bir oksijen radikal kaynağıdır. Mn-SOD'un büyük ölçüde sitokinler tarafından indüklendiği ve bastırıldığı gösterilmiştir, ama oksidanlar tarafından sadece orta derecede etkilenir. Rekombinant insan mitokondriyal Mn-SOD'un peroksinitrit ile inaktivasyonuna, spesifik bir tirozin kalıntısının nitratlanması neden olur [67-69].

Mn-SOD'un biyolojik önemi aşağıdaki gözlemlerle gösterilmiştir: (a) *Escherichia coli*'deki Mn-SOD genlerinin inaktivasyonu, aerobik koşullarda yetiştirildiğinde mutasyon sıklığını artırır; (b) *Saccharomyces cerevisiae*'deki genin eliminasyonu, O₂'e olan duyarlılığını artırır; (c) Mn-SOD knock-out farelerde ekspresyon eksikliği, dilate kardiyomiyopati ve neonatal letalite ile sonuçlanır; (d) tümör nekroz faktörü (TNF) seçici olarak çeşitli fare dokularında ve kültürlenmiş hücrelerdeki Cu/Zn-SOD, CAT veya GSH-Px mRNA'larını değil Mn-SOD mRNA'yı indükler; (e) Mn-SOD cDNA'nın kültürlenmiş hücrelere transfeksiyonu, parakuat, TNF ve doksorubisin tarafından uyarılan sitotoksositeye dirençli hücreler oluşturdu. Transgenik farelerde insan Mn-SOD genlerinin radyasyon kaynaklı neoplastik transformasyon ifadesi O₂ kaynaklı akciğer hasarına ve doksorubisin kaynaklı kardiyotoksositeye karşı koruma sağlar [61].

Cu/Zn-SOD:

Cu/Zn-SOD (SOD-1), evrim boyunca korunan başka bir enzim tipidir. Bu enzimler yaklaşık 32 kDa'lık iki özdeş altbirime sahiptir. Her bir alt birim, bir histamin kalıntısı ile köprülenmiş bir bakır (Cu) ve bir çinko(Zn) atomundan meydana gelen ve aktif bölge olan metal bir küme içerir. Cu/Zn-SOD'un antioksidan savunmanın ilk hattında önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır [61].

Ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC-SOD):

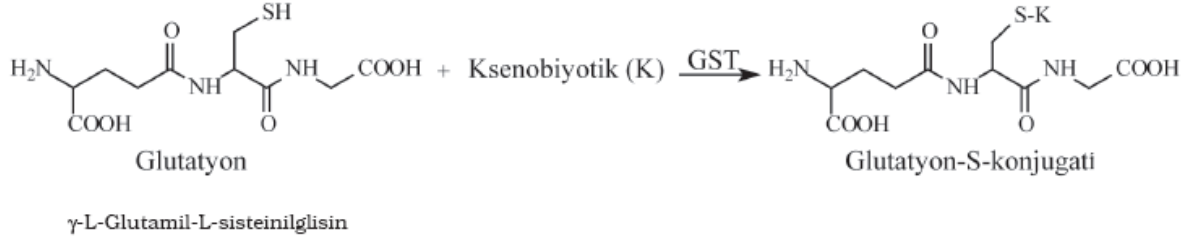
Ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC-SOD) heparin ve heparan sülfat gibi bazı glukozaminoglikanlar için yüksek afiniteye sahip tetramerik, Cu ve Zn içeren bir glikoproteindir. EC-SOD, substrat veya diğer oksidanlar tarafından indüklenmez ve memeli dokularındaki regülasyonu, esas olarak, tek tek hücrelerin oksidanlara tepkisi olarak değil, sitokinler tarafından koordine edilen bir şekilde gerçekleşir [70].

Fe-SOD:

FeSOD bakterilerde, özellikle daha ilkel olanlarda, bitkilerin kloroplastlarında, birkaç protistte ve ökaryotlarda bulunur. FeSOD, periplazmik konumu nedeniyle temizlik enzimi olarak görev yapabilir ve çevresel oksidatif strese karşı direnç sağlayabilir [71].

2.4.2.4. Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon S-Transferaz (GST)'lar, doymamış aldehitler, epoksitler ve hidroperoksitler (ROOH) gibi sekonder metabolitleri inaktive eder (Şekil 2.4.2.4.1.). Üç ana GST ailesi tanımlanmıştır: sitozolik GST, mitokondriyal GST ve eikozanoid ve GSH metabolizmasında rol alan membran ilişkili mikrozomal GST [64].



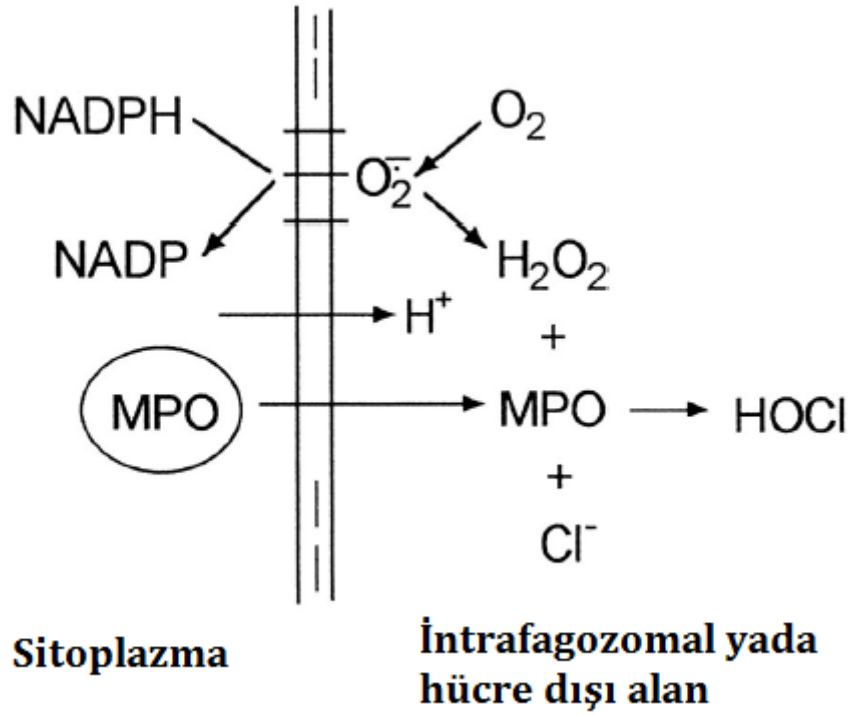
Şekil 2.17. Glutasyon S-transferazın katalizlediği ksenobiyotik-glutasyon konjugasyonu [72]. Glutasyon S-transferazlar, GSH'nin endojen lipid peroksidasyon ürünleri ile konjugasyonunda, Se'ye bağlı olmaksızın GSH-Px aktivitesi aracılığı ile ROOH'lerin etkisizleştirme reaksiyonlarına katılarak hücreyi oksidatif strese karşı korur [73].

2.4.2.5. Glutasyon redüktaz (GRx)

1930-50'ler arasında Hopkins ve diğer birkaç grup tarafından yapılan çalışmalara dayanarak, Racker 1955'te mayadan GRx'ı saflaştırdı ve NADPH'yi elektron vericisi olarak doğruladı. Fonksiyonel GRx, insanlar dahil çeşitli aerobik organizmaların hayatta kalması için bir ön koşul değildir. Bugüne kadar, GRx eksikliğiyle ilgili tek belgelenmiş klinik semptomlar eritrositlerin oksidatif zorluğa (bakla yedikten sonra ki hemolitik kriz dahil) ve erken yetişkinlik döneminde katarakt gelişimine daha fazla yatkınlığı ile sınırlıdır [74].

2.4.2.6 Miyeloperoksidaz (MPO)

Miyeloperoksidaz (MPO), güçlü prooksidatif ve proinflamatuvar özellikleri ile karakterize edilen, esas olarak aktif nötrofiller tarafından salınan, iyi bilinen bir enzimdir. MPO, polimorfonükleer nötrofillerin ve makrofajların azurofilik granüllerinde depolanmış bir hemoproteindir. MPO LDL kolesterol içerisindeki lipidlerin oksidasyonunda rol oynamıştır. Ek olarak, MPO, endotelial kaynaklı nitrik oksiti tüketir, böylece nitrik oksitin biyoyararlanımını azaltır ve damar genişletici ve antienflamatuvar özelliklerini bozar. Birçok organizmaya karşı antimikrobiyal etki gösterir. MPO, H₂O₂ ve klor anyonundan hipokloröz asit üretir buna ek olarak tirozini oksitleyerek tirozil radikali oluşturur [75].



Şekil 2.18. MPO-H₂O₂-klorür antimikrobiyal sistemi NADPH, İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat; O₂. Süperoksit anyon; HOCl, hipokloröz asit [76].

2.4.3. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında vitaminler, β-karoten, ürik asit ve GSH gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikler bulunur [64].

2.4.3.1. C Vitamini (Askorbik asit)

Suda çözünebilir C vitamini (askorbik asit), esas olarak O₂'siz radikalleri temizleyerek hücre içi ve hücre dışı sulu faz antioksidan kapasitesini sağlar. E vitamini serbest radikallerini E vitaminine geri dönüştürür. Plazma düzeyinin yaşla birlikte azaldığı gösterilmiştir [64].

2.4.3.2. Vitamin E (α-Tokoferol)

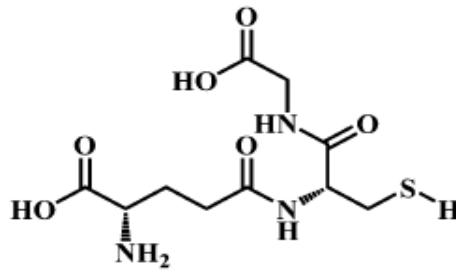
Lipit-çözünür E vitamini, hücre zarının hidrofobik iç bölgesinde yoğunlaşır ve oksidan kaynaklı membran hasarına karşı temel savunmayı oluşturur. E vitamini elektronunu lipit peroksidasyonu sırasında üretilen ROO·'ne verir. α-tokoferol, E vitamininin ve hücredeki başlıca

membrana bağlı antioksidanların en aktif şeklidir. E vitamini kanser hücrelerinin apoptozunu tetikler ve serbest radikal oluşumlarını engeller [64].

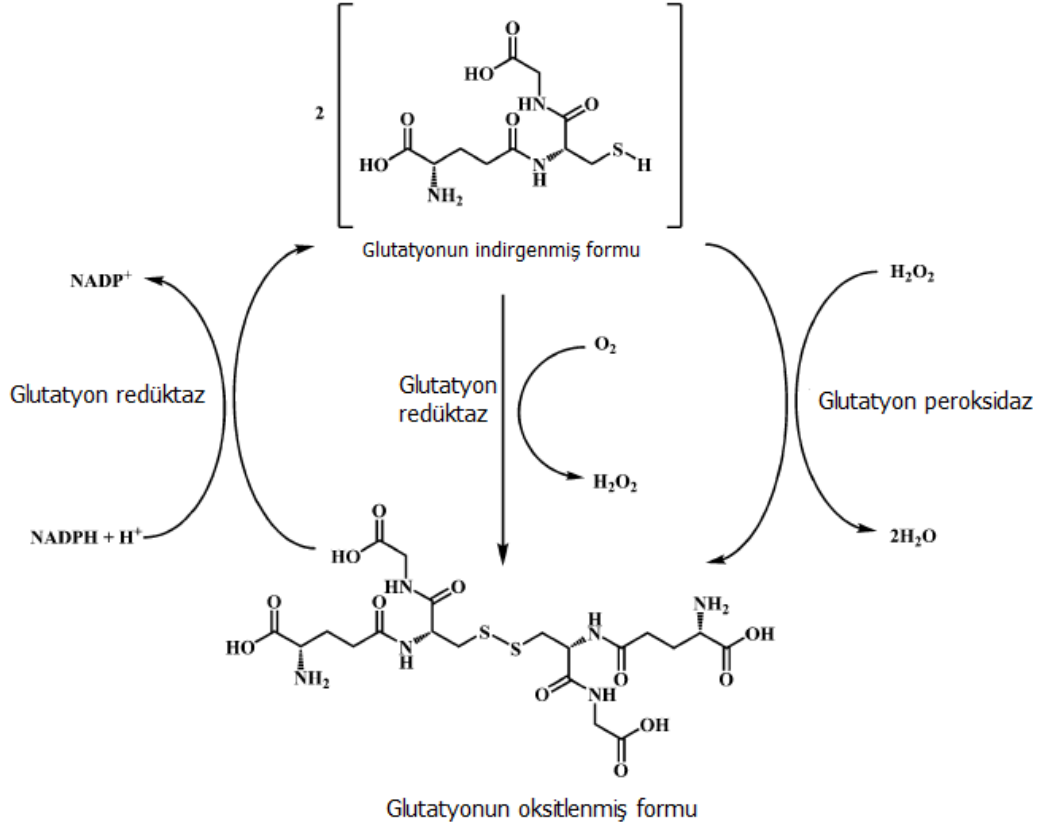
2.4.3.3. Glutasyon (GSH)

GSH, tüm hücre bölmelerinde oldukça fazladır ve başlıca çözünür antioksidandır. GSH/GSSG(glutasyon disülfid) oranı oksidatif stresin başlıca belirleyicisidir. GSH antioksidan etkilerini çeşitli şekillerde gösterir. GSH, GSH-Px aktivitesi üzerinden H_2O_2 ve lipid peroksitleri detoksifiye eder. GSH elektronunu H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye indirgemek için H_2O_2 'ye verir. GSSG tekrar elektron vericisi olarak NAD(P)H kullanan GSH redüktaz tarafından GSH'ye indirgenir. GSH-Px'ler ayrıca hücre zarının lipid peroksidasyonundan korunması için önemlidir. İndirgenmiş GSH, protonları membran lipidlerine bağışlar ve membran lipidlerini oksidan ataklardan korur. GSH, GSH-Px ve GST gibi birçok detoksifiye edici enzim için bir kofaktördür. C vitamini ve E vitamininin aktif formlarına dönüşmesinde rol oynar. GSH, proapoptotik ve antiapoptotik sinyal yolları ile etkileşerek hücreleri apoptosise karşı korur [64].

Şekilde gösterildiği gibi, GSH'nin katalitik döngüsünde GSH oksidaz, GRx ve GSH-Px olmak üzere üç enzim grubu tanımlanabilir. GSH oksidaz ve GSH-Px, GSH'nin GSSG'e oksidasyonunu katalize eder. Oysa GRx, NADPH'ye bağımlı bir süreçte GSH'nin GSSG'den rejenerasyonundan sorumludur. Hücreler GSSG üretebilir veya GRx varlığında NADPH kullanarak GSH'ye dönüştürebilir. Bununla birlikte GSH'nin amino asit bileşenlerinden *de novo* sentezlenmesi, GSH'nin oksidatif strese adaptif bir yanıt olarak yükselmesi için gereklidir. GSH'deki sülfidril grubunun varlığı, bir antioksidan olarak işlev görmesini sağlar [24].



Şekil 2.19. Glutasyon [24].



Şekil 2.20. Glutasyonun indirgenmiş formunda (GSH) ve oksitlenmiş formda (GSSG) glutasyon oksidaz, GRx ve GSH-Px enzimleri ile interkonversiyonu [24].

2.4.3.4. Karotenoidler (β -karoten)

Karotenoidler bitkilerde bulunan pigmentlerdir. Öncelikle, β -karotenin peroksil, hidroksil ve süperoksit radikalleri ile reaksiyona girdiği bulunmuştur. Karotenoidler antioksidan etkilerini O₂'nin düşük kısmi basıncında gösterirler ancak daha yüksek O₂ konsantrasyonlarında prooksidan etkilere sahip olabilirler. Hem karotenoidler hem de retinoik asitler (RA) transkripsiyon faktörlerini düzenleyebilir. Karotenoidler ayrıca hücrelerin apoptozunu da etkiler. RA'nın antiproliferatif etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. RA'nın bu etkisine esas olarak retinoik asit reseptörleri aracılık eder ve hücre tipleri arasında değişir. Memeli karsinom hücrelerinde, retinoik asit reseptörünün, hücre döngüsünün bloke edilmesini, apoptozu veya her ikisini de indükleyerek büyüme inhibisyonunu tetiklediği gösterilmiştir [64].

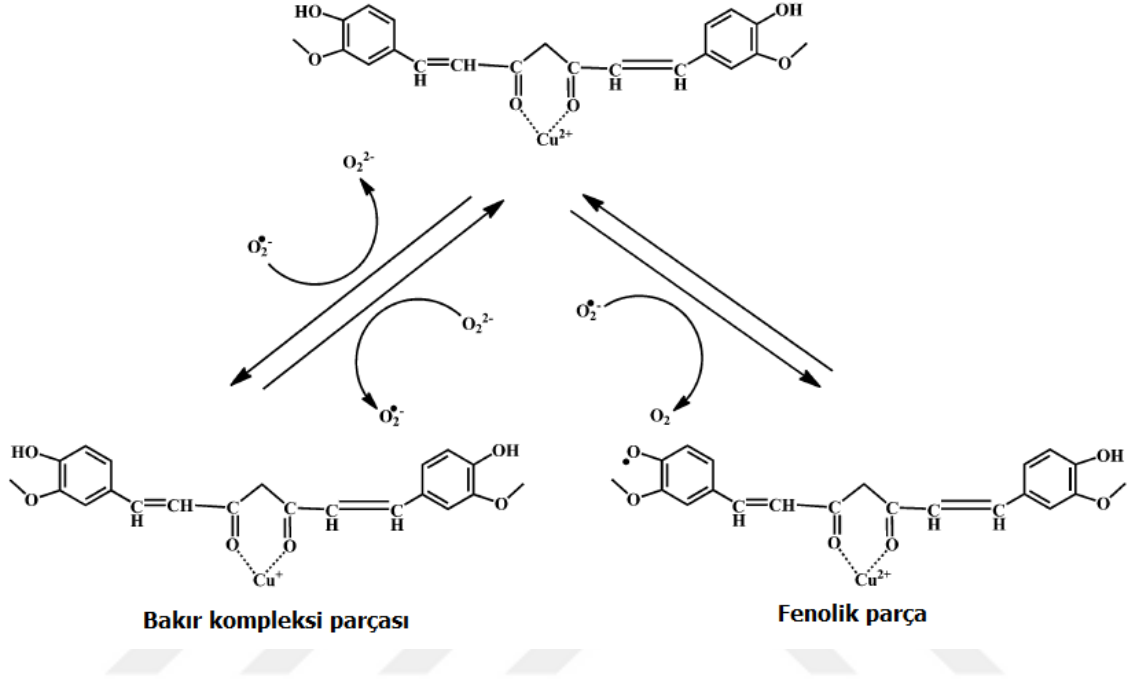
2.4.4. Bitkisel kaynaklı antioksidanlar

2.4.4.1. Kurkumin

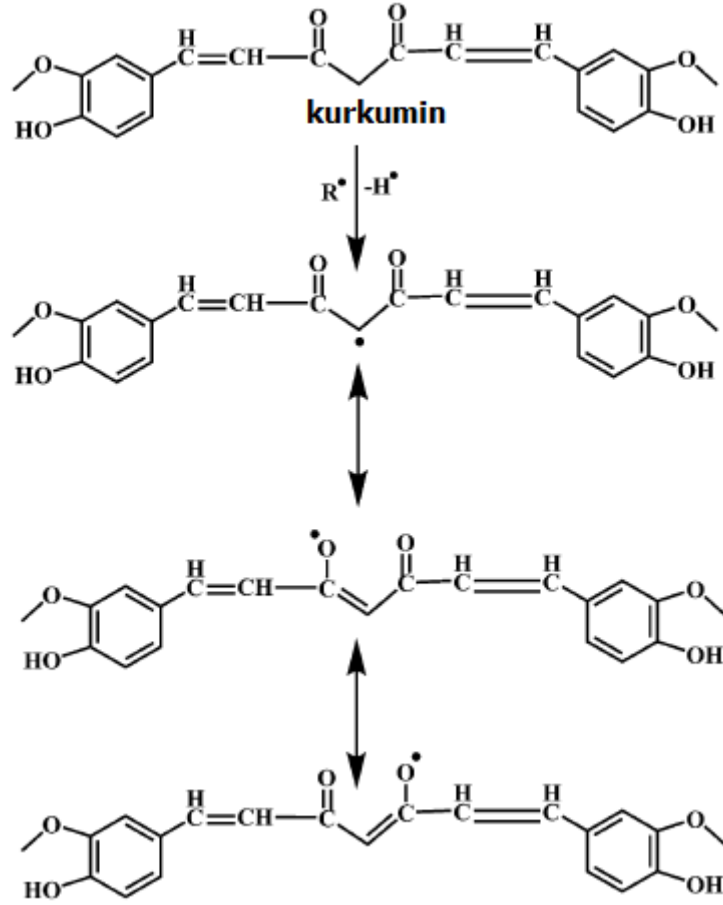
Asya'nın tropikal bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilen çok yıllık bir bitki olan zerdeçal (*Curcuma longa* (*Zingiberaceae*)) rizomlarında bol miktarda bulunan doğal bir polifenolik bileşik olan kurkumin'in, topikal veya oral uygulamadan sonra kapsamlı antiinflamatuvar ve antikanser özelliklere sahip olduğu bilinmektedir [77]. Rizomu yiyeceklere renk ve lezzet vermek için yaygın olarak kullanılır. Eski Hindu metinlerinde, aromatik, uyarıcı ve karminatif özellikler atfedilir. Sönmüş kireç ile karıştırılmış zerdeçal, yaralanmaların neden olduğu burkulmalar ve şişliklerin tedavisi için bir evsel ilaç olarak bilinir. Bu amaçla etkilenen bölgeye yerel olarak uygulanır. Günümüzde geleneksel Hint tıbbı, safra hastalıkları, anoreksiya, nezle, öksürük, diyabetik yaralar, hepatik bozukluklar, romatizma ve sinüzite karşı zerdeçal kullanımını tavsiye etmektedir. Çin geleneksel tıbbında, karın ağrıları vb. hastalıklarda *Curcuma longa* kullanıyor [78]. Kurkumin (1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil) -1,6-heptadien-3,5-dion) lipofilik polifenoldür ve bu nedenle suda çözünmez, ancak dimetilsülfoksit, aseton ve etanol gibi organik çözücüler içinde kolayca çözünür (79, 80). Zerdeçal tozu sarı pigmentlidir ve kurkumin (% 77), demetoksikurkumin (% 17) ve bis-demetoksikurkumin (% 3) olmak üzere sayısız kurkuminoid içerir. Kurkuminoidlerin antioksidan aktivitesi, kimyasal yapıları sayesinde oluşur. Kurkuminin, okside edilebilen ve bir yağ asidi radikali oluşturabilen bir çoklu doymamış yağ asidi olan linoleat kullanılarak lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Lipit peroksidasyonunu inhibe etmenin yanı sıra, kurkumin serbest radikal temizleme aktivitesi gösterir [81]. Kurkuminin serbest radikal süpürücü aktivitesi fenolik OH grubu ve β -diketon parçasının CH_2 grubu ile ilişkilidir. Serbest radikal, bu iki alanın herhangi birinden elektron transferi yapabilir veya H atomu geçirebilir. Biyokimyasal yöntemler, kurkuminin antioksidan aktivitesini fenolik OH grubuna bağlamıştır [82]. Kurkuminin moleküler oksijen (O_2) ile tepkimesiyle, $\text{ROO}\cdot$ oluşur. Daha sonra $\text{ROO}\cdot$, başka bir kurkumin molekülünden bir hidrojen atomu alır ve otooksidasyon zincir reaksiyonunu yayarak hidroperokside indirgenir. Daha sonra, ROOH su molekülü kaybederek spiroepokside yeniden düzenler. Epoksitin (sudan türetilen) hidroksil grubu ile hidrolizi final bisiklopentadion ürününün oluşumuyla sonuçlanır [83]. Kurkumin'in Cu ile oluşturduğu kompleksin gelişmiş antioksidan etkinliğe sahip gelecek vaadeden SOD aktivitesi gösterdiği bulunmuştur [84].

O_2^- kurkumin-Cu(II) kompleksi ile reaksiyona girdiğinde, O_2^- 'nin önemli bir kısmı Cu^{2+} parçası ile reaksiyona girer, sadece küçük bir kısım kurkumin ile reaksiyona girer. Reaksiyon sonucunda Cu^{2+} Cu^+ 'ya indirgenir. Cu^+ , O_2^- 'nin başka bir molekülü tarafından oksidasyona uğrar, bu şekilde ana kompleksi yeniden oluşturur. Bu nedenle, katalitik aktivite esas olarak

kompleksteki $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ çiftinin içindeki tersinir redoks tepkimelerinden gelir. Bununla birlikte, fazla $\text{O}_2^{\cdot-}$ varlığında fenolik kısım, fenoksil radikallerinin üretimiyle sonuçlanan oksidasyona uğrar. Daha sonra bu fenoksil radikalleri yeni ürünler oluşturabilir veya kompleksin yenilenmesi ile sonuçlanan kompleksin indirgenmiş Cu iyonları ile reaksiyona girer [24].



Şekil.2.21. Kurkuminin serbest radikal temizleme mekanizması [24].



Şekil.2.22. kurkuminin serbest radikal temizleyici aktivitesi [24].

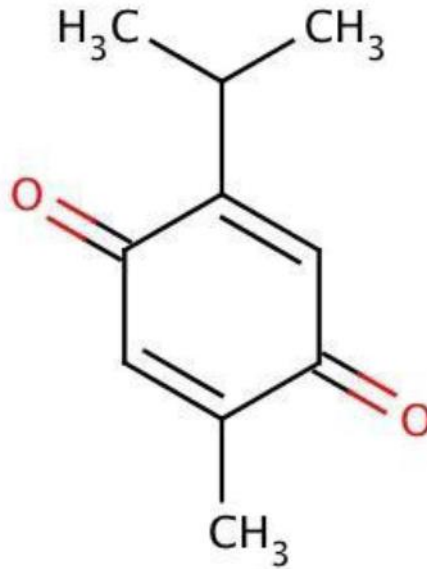


Şekil.2.23. *Curcuma longa* bitkisi rizomlarıyla birlikte [85].

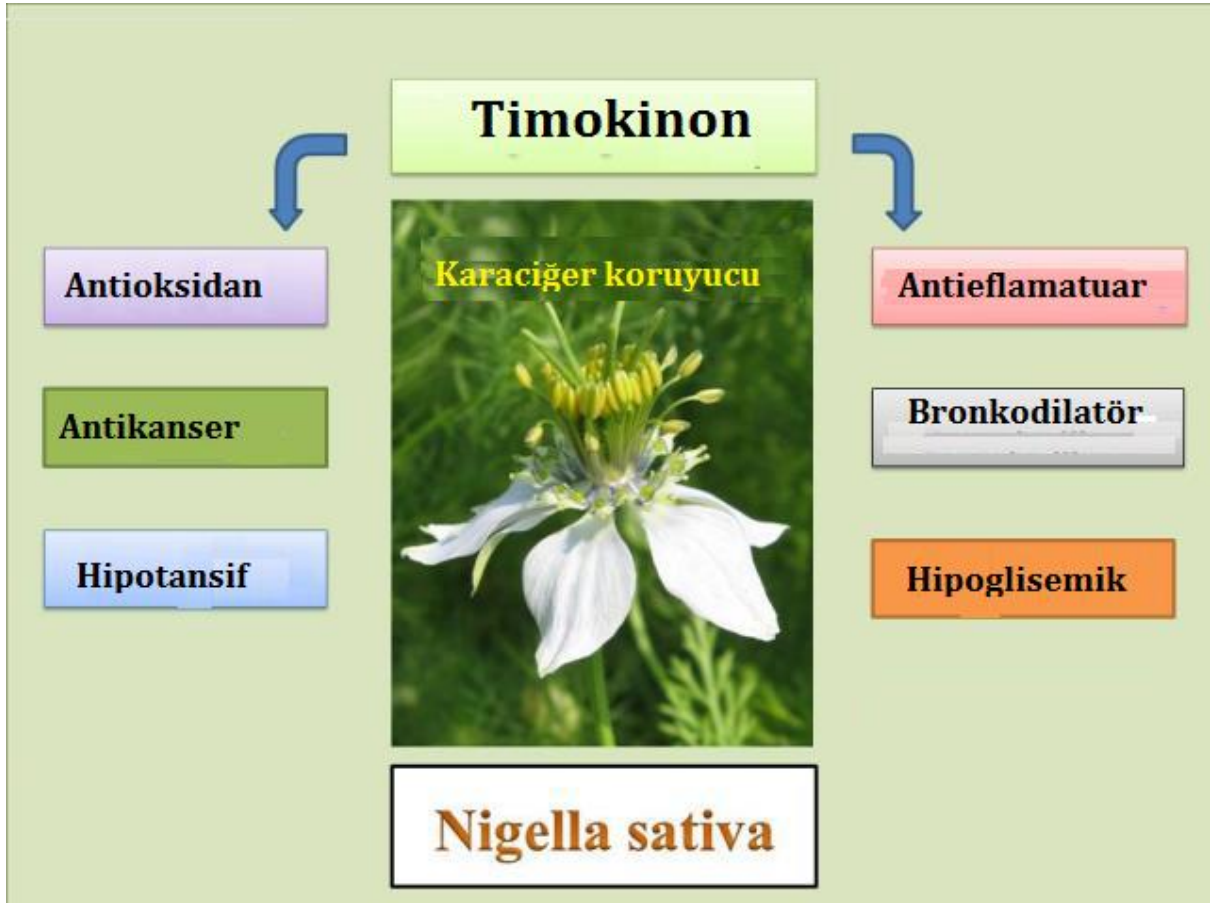
2.4.4.2. Timokinon (TQ)

Siyah kimyon olarak da bilinen *Nigella sativa* L., *Ranunculaceae* ailesinin bir üyesi olarak kategorize edilir ve Akdeniz bölgesindeki ülkelere özgüdür [86]. Timokinon (TQ), *Nigella sativa*'nın uçucu yağının (% 54) biyoaktif bileşenidir. Antiinflamatuvar, antioksidan ve antineoplastik etkilerin hem in vitro hem de in vivo uygulamada olduğu gösterilmiştir. Pek çok araştırmacı TQ'nun büyüme engelleyici etkilerinin kanser hücrelerine özgü olduğunu göstermiştir [87-90]. Kimyasal formülü $C_{10}H_{12}O_2$ olan ve 2- izopropil-5 metil- 1,4 benzokinon yapısındaki TQ'nun molekül ağırlığı 164.201 g/mol dır [91]. TQ, insan pankreatik adenokarsinomuna, rahim sarkomasına ve lösemik hücre çizgilerine karşı belirgin anti-neoplastik aktivite gösterirken, normal hücrelere minimal toksiktir. TQ ayrıca antioksidan etkiler gösterir [92]. Hayvan modellerinde ve hücre kültürü sistemlerinde inflamasyonu inhibe eder [93]. *Nigella sativa*'nın antioksidan özellikleri birçok çalışmada gösterilmiştir. TQ,

konsantrasyon bağımlı bir şekilde Fe bağımlı lipit peroksidasyonunu önleme kabiliyetine sahiptir. Güçlü bir O_2^- radikali süpürücü aktivitesi vardır. Bu özellik ile, TQ, oksidatif stresi azaltabilir ve vücutta antioksidan savunmayı artırabilir. Total tiyol içeriği ve GSH düzeyindeki artışa paralel olarak, malondialdehid ve oksidatif stresin diğer biyobelirteçlerindeki azalma, TQ tedavisinin sonuçlarıdır. Hücrel koruyucu mekanizmalarda anahtar fonksiyonlara sahip olduğu bilinen karaciğerdeki GSH içeriği özellikle karaciğerde yüksek konsantrasyonda bulunur. Oksidatif stresin neden olduğu total tiyol içeriğinin azalması protein inaktivasyonu, protein oksidasyonu, lipit peroksidasyonu ve sonuçta hücre canlılığının azalması ile sonuçlanabilir. TQ ile serbest radikallerin azalması, DNA'ya saldırma ve kanser riskini azaltabilir. TQ, birçok ksenobiyotiğin reaktif genotoksik radikal türevlerine biyotransformasyonuna dahil olan hepatik CYP1A1/A2 izozimlerinin aktivitesini inhibe eder [94]. TQ, SOD, CAT ve GSH-Px gibi hepatik antioksidan enzimlerde kaydadeğer miktarda azalmaya neden olur [91].



Şekil 2.24. Timokinon [91].



Şekil 2.25. *Nigella sativa* bitkisi ve etkin maddesi timokinonun etkileri [94].



Şekil 2.26. Çalışmada kullanılan timokinon ve kurkumin etken maddesi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Çalışma için Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan (Kurulun 08/01/2018 tarihli ve 01 sayılı kararı) onay alınmıştır ve tüm çalışmalar Etik Kurul ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi.

Çalışmada Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinden temin edilen 42 adet, ağırlıkları 250-350 gr arasında değişen, erişkin erkek Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Grupların kendi içinde homojen olmasına ve gruplardaki rat ağırlık toplamalarının yaklaşık aynı değerde olmasına dikkat edilerek gruplar oluşturuldu. Tüm gruplar eşzamanlı olarak çalışıldı. Deney hayvanları MEÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında her grup ayrı kafeslerde yer alacak şekilde, euro standart tip IV içinde bakıldı ve standart rat yemi ile beslendi. Sıçanlar 12 saat ışık/karanlık periyodunda ve 18-22 °C'de muamele edildiler. Yem ve su ad libitum olarak verildi.

3.1.2. Alet ve teçhizat

Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma,2-16K)
Derin Dondurucu (Regal, RDD 1145)
Etüv (Binder)
Spektrofotometre (Analytikjena-SPECORD 50)
Hassas Terazı (Mettler Toledo)
Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
Vorteks (REAX)
Mini santrifüj (Eppendorf)
Su Banyosu (GFL-Wasserbad Water Bath)
Distile Su Cihazı (Millipore)
Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000) pH Metre (Mettler Toledo)
Homojenizatör (IKA)
pH Metre (Mettler Toledo)

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kurkumin (Sigma)
Timokinon (Sigma)
Akrilonitril (Aldrich)Tiobarbitürik Asit (TBA) (Merck)
Ksantin (Sigma)
Ksantin Oksidaz (Sigma)
Trikloroasetik Asit (TCA) (Merck)
Ketamin Pfizer (eralar flakon)
Ksalazin Bayer (Rampum flakon)
Sodyum Klorür (Merck)
1-Butanol (Riedel de Haen)
Amonyum Sülfat (Sigma)
Asetik Asit (Merck)
Bakır Klorür (Sigma)
Bakır Sülfat Pentahidrat (Merck)
Bovine Serum Albumin (BSA) (Sigma)
Disodyum Hidrojen Fosfat (Merck)
Etil Alkol (Etanol) (Merck)
Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) (Merck)
Folin Ciocalteu's Fenol Reagent (Sigma)
Glutasyon Redüktaz (Sigma)
H₂O₂ (Merck)
Ksalazin Bayer (Rampum flakon)
Ksantin Oksidaz (Sigma)
Nitroblue Tetrazolium Klorür (NBT) (Sigma)
Piridin (Riedel de Haen)
Potasyum Dihidrojen Fosfat (Merck)
Potasyum Sodyum Tartarat (Merck)
Redükte L-Glutasyon (Sigma)
Redükte β-NADPH (Sigma)
Sodyum Azid (Sigma)
Sodyum Dodesil Sülfat (Sigma)
Sodyum Hidroksit (Merck)
Sodyum Karbonat (Merck)
Tetrametoksipropan (Aldrich)

3.2. Deney Grupları

Çalışmamız her grupta 7 hayvan olacak şekilde 6 grupta oluşturuldu.

1. **Kontrol grubu (Grup 1) (n=7):** Bu gruptaki sıçanlara 21 gün boyunca 1 cc % 0.9 serum fizyolojik (SF) gavaj olarak uygulandı. Bu gruptaki hayvanlara akrilonitril, kurkumin ve timokinon uygulanmadı.
2. **Akrilonitril grubu (Grup 2) (n=7):** Bu gruptaki sıçanlara 21 gün boyunca 50 mg/kg akrilonitril gavaj olarak uygulandı.
3. **Kurkumin grubu (Grup 3) (n=7):** Bu gruptaki sıçanlara 21 gün boyunca 100 mg/kg kurkumin gavaj olarak uygulandı.
4. **Akrilonitril + Kurkumin grubu (Grup 4) (n=7):** Bu gruptaki sıçanlara 21 gün boyunca 50 mg/kg akrilonitri gavaj olarak uygulandı. Tedavi olarak deney süresince 100 mg/kg kurkumin gavaj olarak uygulandı.
5. **Timokinon grubu (Grup 5) (n=7):** Bu gruptaki sıçanlara 21 gün boyunca 15 mg/kg Timokinon gavaj olarak uygulandı.
6. **Akrilonitril + Timokinon grubu (Grup 6) (n=7):** Bu gruptaki sıçanlara 21 gün boyunca 50 mg/kg akrilonitril gavaj olarak uygulandı. Tedavi olarak deney süresince 15 mg/kg timokinon gavaj olarak uygulandı.

Çalışmanın 22. günde sıçanlar sakrifiye edildi, karaciğer ve böbrek dokuları alındı.

3.3. Yöntem

3.3.1. Doku Örnekleri:

İntraperitoneal yoldan ketamin (200 mg/kg i.p.) verilerek anestezi altına alınan erkek sıçanların izole edilen karaciğer ve böbrek dokuları SF solüsyonu ile yıkanarak temizlendi daha sonra kurutma kağıdı ile ıslaklığı giderilerek çalışma gününe kadar derin dondurucuda -20°C'de muhafaza edildi.

3.3.2. Homojenizasyon:

Yaş ağırlıkları 100 mg olarak ayarlanan dokuların soğukluğu korunarak homojenizatör yardımıyla 1/10 oranında soğuk 0.1 M Fosfat tamponu (pH:7.4) ile homojenize edildi. Doku homojenatları 13000 rpm'de ve +4°C'de 10 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi ve süpernetant kısımları alınarak -20°C' de muhafaza edildi. Enzim aktivite tayini için

kullanılacağı zaman dondurulmuş dokular oda sıcaklığında çözülerek MDA, SOD, CAT ve GSH tayinleri yapıldı.

3.3.3. Analiz Yöntemleri

Oksidatif hasarın biyobelirteçlerinden olan dokuların lipit peroksidasyon durumlarını tahlil edebilmek için MDA düzeylerine bakıldı. Antioksidan enzimlerin değerlendirme amacıyla düzeylerini belirlemek için ise GSH, CAT ve SOD aktivitelere bakıldı. Dokudaki enzim aktivitelerini U/mg protein şeklinde tanımlayabilmek amacıyla tüm dokulardaki protein miktarı ölçüldü.

3.3.3.1. Protein Ölçümü (Lowry Metodu)

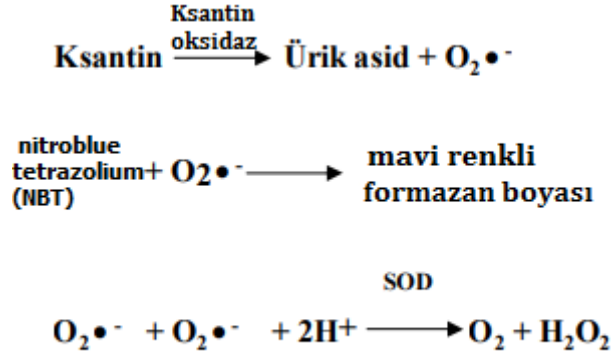
Lowry metodu biyolojik örneklerdeki proteinlerin miktarını ölçmek için en çok kullanılan yöntem olmuştur. Öncelikle proteinler alkali çözeltisi içinde Cu iyonu ile ön muameleye tabi tutulur ve daha sonra işlenmiş numunedeki aromatik amino asitler Folin Reaktifi'nde bulunan fosfomolibdik fosfotungustik asit'i mavi renkli son ürüne indirger [95].

3.3.3.2. Malondialdehit (MDA) Ölçümü

Deneyin prensibi: Bu analiz, lipit peroksit ayrışmasının son ürünü olan renksiz MDA'nın aerobik şartlarda pH 3,4 de tiyobarbitürik asit ile 95 °C'de inkübasyonu sonucu pembe-kırmızı renkli bir bileşik oluşması ve bunun 532 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır [96,97].

3.3.3.3. SOD Ölçümü

Deneyin prensibi: Oksidatif yoldan enerji üretilirken oluşturulan toksik süperoksit radikalinin ($O_2^{\cdot-}$) H_2O_2 'e ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırarak etki gösteren SOD'nin enzim aktivite tayini, ksantin varlığında XOD kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin nitroblue tetrazolium (NBT) ile oluşturduğu mavi renkli formazan boyasının 560 nm dalga boyunda absorblanan renginin ölçülmesiyle elde edilen optik dansitenin okunması esasına dayanır. Ortamdaki mevcut SOD, süperoksit radikallerinin kullanılmasının önüne geçerek formazan reaksiyonunun meydana gelmesini engeller [96].



Şekil.3.1. SOD tayini [96].

Aktivite ölçümü:

Kullanılan Reaktifler:

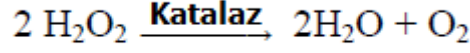
- Sodyum Hidroksid Çözeltisi (0,1 N)
- Stok Ksantin Çözeltisi (3 mM)
- Ksantin Çözeltisi (0,3 mM)
- Etilendiamintetraasetik Asid Çözeltisi (0,6 mM)
- Sodyum Karbonat Çözeltisi (400 mM)
- BSA Çözeltisi (1 g/L)
- Nitroblue Tetrazolium Klorür (NBT) Çözeltisi (0,15 mM)
- SOD Çalışma Reaktifi
- Amonyum Sülfat Çözeltisi (2 M)
- Ksantin Oksidaz Çözeltisi (167 U/L)
- Bakır Klorür Çözeltisi (0,8 mM)

3.3.3.4. Glutatyon (GSH) ölçümü

Deneyin prensibi: Glutatyon ölçümünün temeli sülfidril gruplarının spektrofotometre ile ölçümlerine dayanmaktadır. 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB)'nin GSH'nin sülfidril grupları ile tepkimesiyle bir mol -SH grubuna karşılık bir mol 2-nitro-5-merkaptobenzoik asit vererek DTNB indirgenir ve nitrobenzoik asitle birlikte meydana gelen güçlü sarı rengin şiddeti spektrofotometrede 412 nanometre (nm) dalga boyunda ölçülür [98].

3.3.3.5. Katalaz (CAT) ölçümü

Deneyin prensibi: Katalaz tarafından H₂O₂'in su ve moleküler O₂'ye ayrıştırılma hızı, H₂O₂'in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülür [99].



Şekil.3.2. Katalaz (99)

Kullanılan reaktifler:

1. Fosfat tamponu
2. H₂O₂ (30 mM)

Deneyin yapılışı: 240 nm' de örneğin kör karşısında 30 saniye süre zarfında oluşan absorbans farkı ölçülerek CAT aktivitesi hesaplanır [99].

3.3.4. İstatistiksel Analizler

Çalışmamız sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde "SPSS 20.0 for Windows" paket programı ile "One Way Anova-Tukey" testi kullanılmıştır. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (p) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar, p<0,05 önem derecesinde anlamlı olarak kabul edilmiştir.

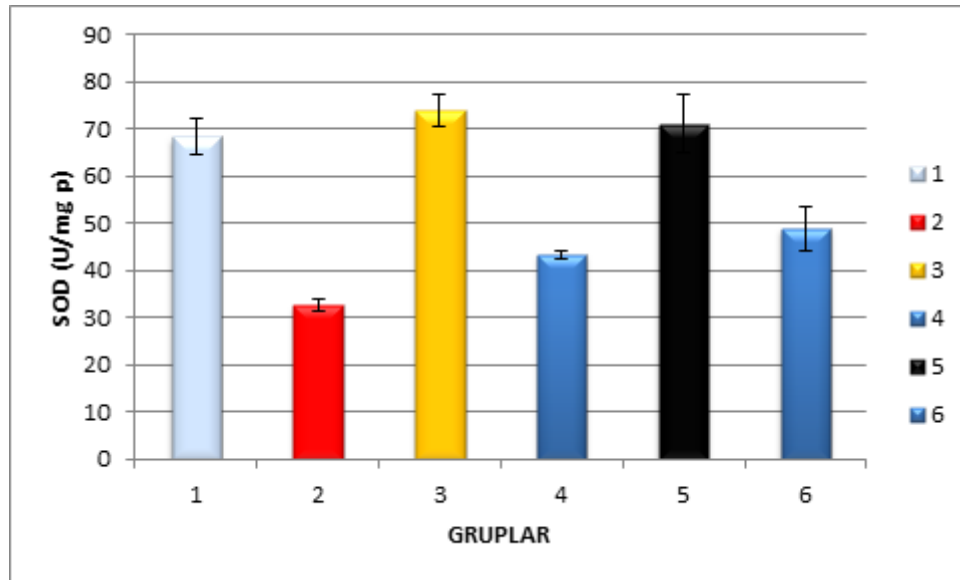
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Karaciğer dokusunda CAT, SOD aktivitelerinin ve GSH, MDA düzeylerinin incelenmesi

Tablo 4.1. Karaciğer dokusu için antioksidan parametrelerin ortalamaları ve standart sapmaları

Parametre	Kontrol (n=6)	Akrilonitril (n=6)	Kurkumin (n=6)	Akrilonitril + Kurkumin (n=6)	Timokinon (n=6)	Akrilonitril + Timokinon (n=6)
SOD	68.42±3.66	32.57±1.23	73.77±3.38	43.33±0.99	71.11±6.12	48.86±4.62
CAT	71.90±3.65	28.19±2.73	76.17±4.39	36.72±2.13	88.27±8.55	44.72±3.34
GSH	58.37±3.54	24.20±1.86	63.51±7.57	38.44±2.42	61.50±2.00	34.12±2.58
MDA	2.25±0.18	5.48±0.28	1.93±0.10	3.62±0.30	1.93±0.11	3.82±0.16

4.1.1. Karaciğer dokusuna ait SOD aktivitesi ile ilgili bulgular



Şekil 4.1. Karaciğer Dokusu SOD Aktiviteleri.

Tablo 4.2. Deney Gruplarına ait Karaciğer Dokusunun SOD Aktivitelerinin Karşılaştırılması.

SOD AKTİVİTESİ İÇİN GRUP KARŞILAŞTIRILMASI	P* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrilonitril (Grup 2)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,03
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,42

(*p<0.05, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Kontrol grubu (Grup 1) ile akrilonitril verilen grup (Grup 2) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

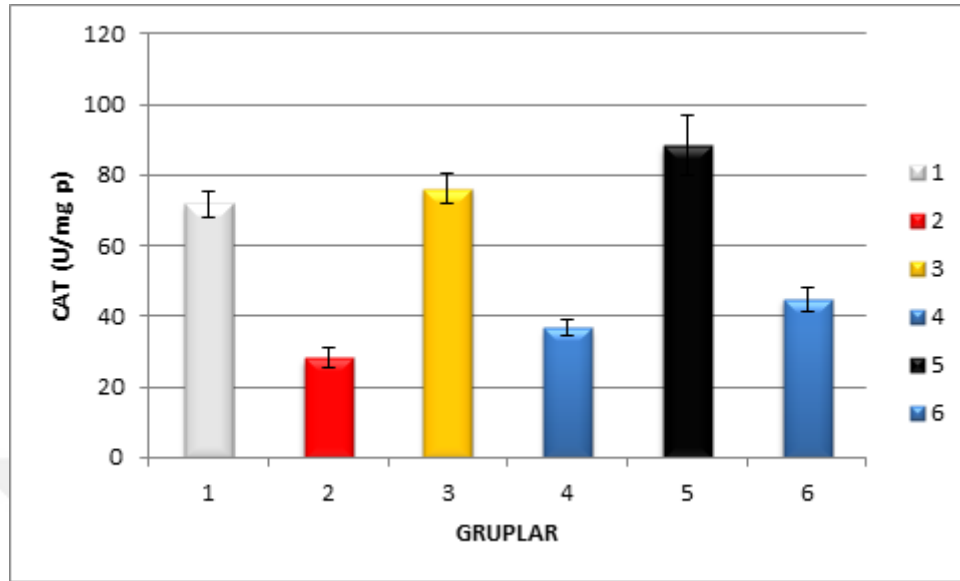
Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) SOD aktivitesinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin arttığı fakat bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

4.1.2. Karaciğer dokusuna ait CAT aktivitesi ile ilgili bulgular



Şekil 4.2. Karaciğer Dokusu CAT Aktiviteleri.

Tablo 4.3. Deney Gruplarına ait Karaciğer Dokusunun CAT Aktivitelerinin Karşılaştırılması

CAT AKTİVİTESİ İÇİN GRUPLARIN KARŞILAŞTIRILMASI	p* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrilonitril (Grup 2)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,20
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,00

(*p<0.05, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Karaciğer dokusunda kontrol grubu (Grup 1) ile akrilonitril verilen grup (Grup 2) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin azaldığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

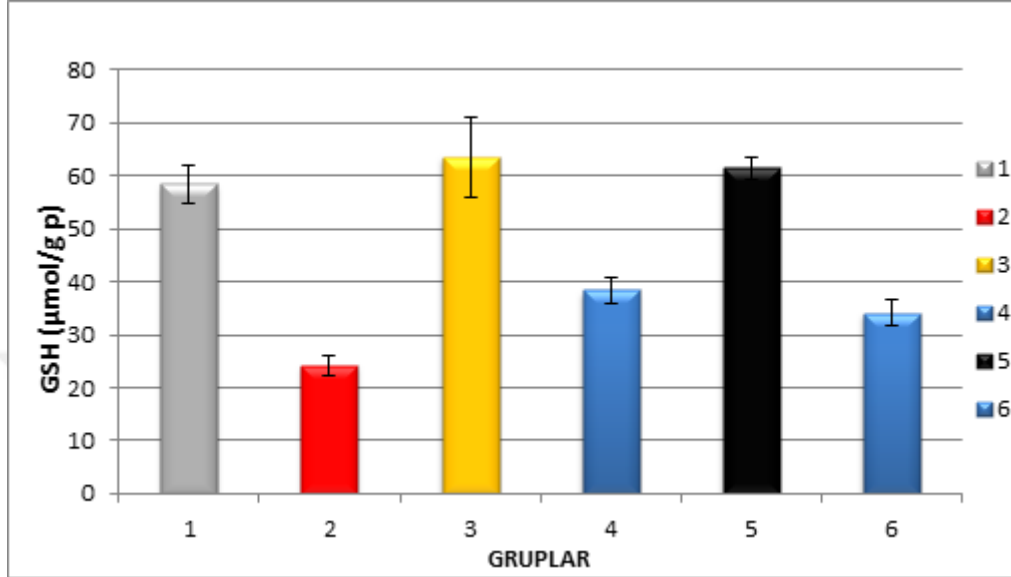
Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin arttığı ama bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin anlamlı şekilde ($p<0,05$) artış gösterdiği görüldü.

4.1.3. Karaciğer dokusuna ait GSH düzeyleri ile ilgili bulgular



Şekil 4.3. Karaciğer Dokusu GSH Düzeyleri.

Tablo 4.4. Deney Gruplarına ait Karaciğer Dokusunun GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması

GSH DÜZEYLERİ İÇİN GRUP KARŞILAŞTIRILMASI	p* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrlonitril (Grup 2)	0,00
Akrlonitril (Grup2) X Akrlonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrlonitril (Grup2) X Akrlonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,337
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,109

(* $p<0,05$, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Karaciğer dokusunda kontrol grubu (Grup 1) ile akrilonitril verilen grup (Grup 2) GSH düzeyinin azaldığı ve bu değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

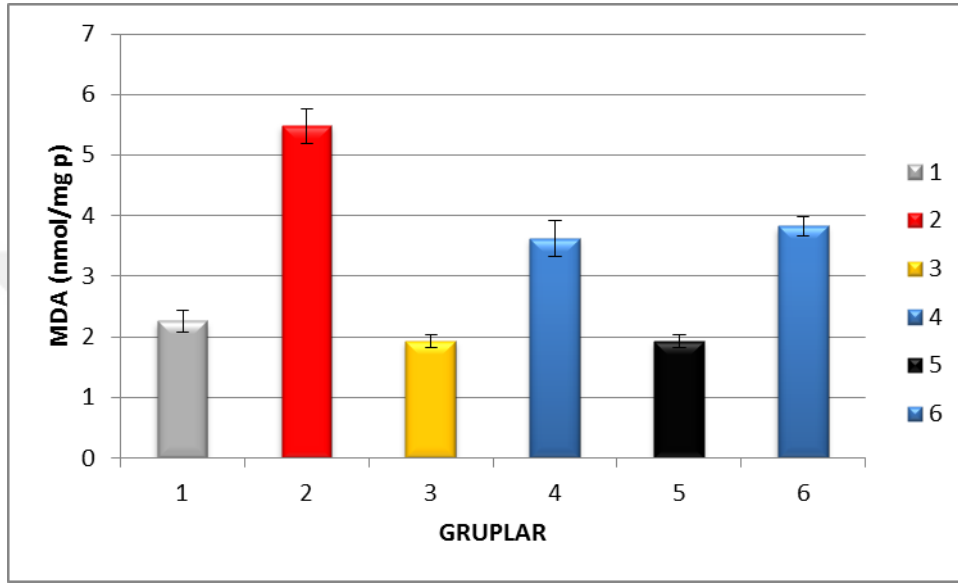
Akrlonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında GSH düzeyinin arttığı ve bu değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrlonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında GSH düzeyinin arttığı ve bu değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında GSH düzeyinin arttığı ama bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında GSH düzeyinin arttığı fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

4.1.4. Karaciğer dokusuna ait MDA düzeyleri ile ilgili bulgular



Şekil 4.4. Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri.

Tablo 4.5. Deney Gruplarına ait Karaciğer Dokusunun MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması

MDA DÜZEYLERİ İÇİN GRUP KARŞILAŞTIRILMASI	p* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrilonitril (Grup 2)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,00
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,01

(* $p<0,05$, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Karaciğer dokusunda kontrol grubu (Grup 1) ile akrilonitril verilen grup (Grup 2) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin azaldığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin azaldığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,05$) görüldü.

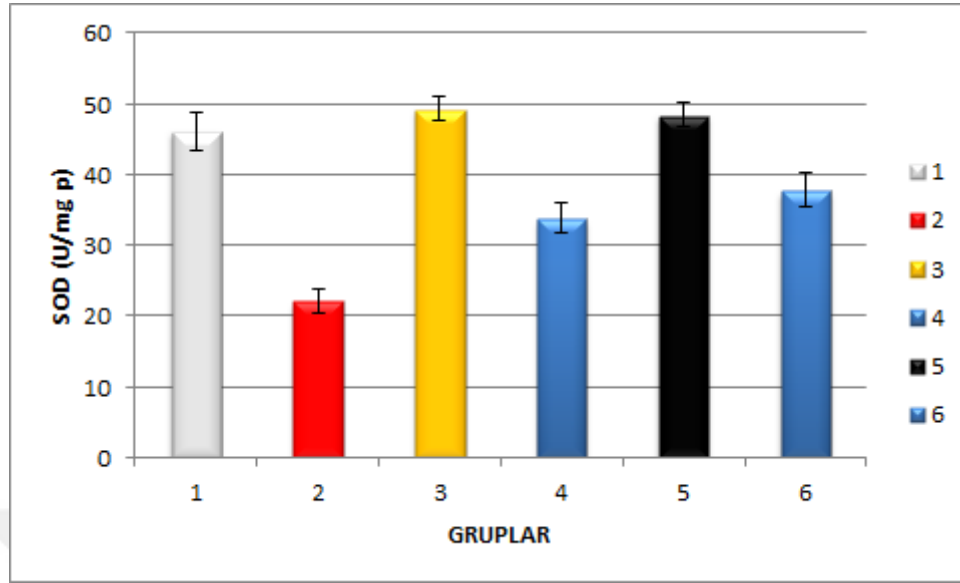
Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,05$) görüldü.

4.2. Böbrek dokusunda CAT, SOD aktivitelerinin ve GSH, MDA düzeylerinin incelenmesi

Tablo 4.6. Böbrek dokusu için antioksidan parametrelerin ortalamaları ve standart sapmaları

Parametre	Kontrol	Akrilonitril	Kurkumin	Akrilonitril + Kurkumin	Timokinon	Akrilonitril + Timokinon
SOD	46.07±2.60	22.10±1.74	49.29±1.81	33.81±2.10	48.39±1.64	37.72±2.41
CAT	58.16±2.67	24.00±1.08	60.02±4.45	35.70±2.34	60.56±3.04	43.11±2.13
GSH	40.75±2.20	14.92±0.72	50.92±1.31	33.10±1.98	48.43±1.96	21.36±1.39
MDA	2.27±0.18	4.35±0.26	1.96±0.09	3.37±0.15	1.95±0.05	3.02±0.37

4.2.1. Böbrek dokusuna ait SOD aktivitesi ile ilgili bulgular



Şekil 4.5. Böbrek Dokusu SOD Aktiviteleri.

Tablo 4.7. Deney Gruplarına ait Böbrek Dokusunun SOD Aktivitelerinin Karşılaştırılması

SOD AKTİVİTESİ İÇİN GRUP KARŞILAŞTIRILMASI	p* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrilonitril (Grup 2)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,025
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,150

(*p<0.05, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Böbrek dokusunda akrilonitril (Grubu 2) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin anlamlı şekilde ($p<0,05$) azaldığı görüldü.

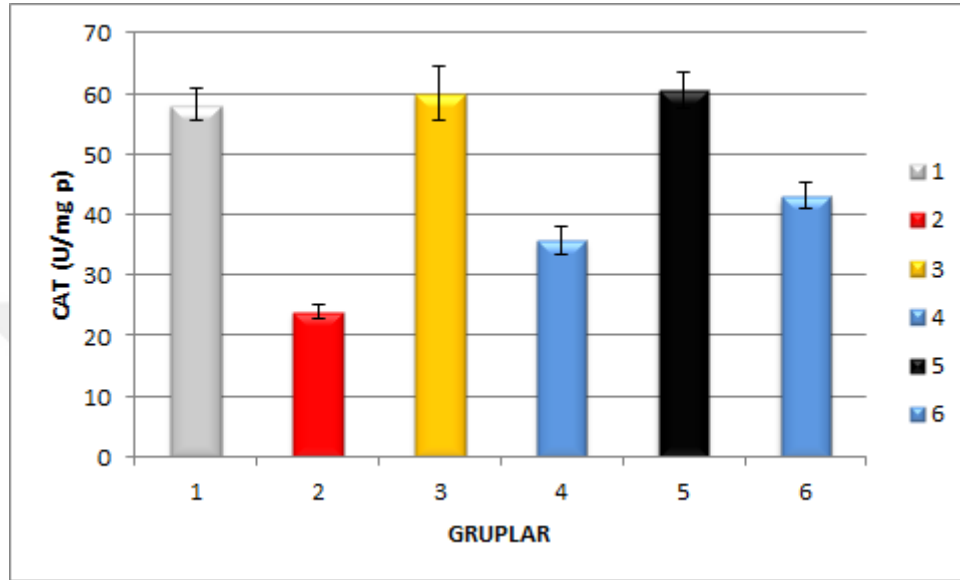
Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin arttığı ve bu değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında SOD aktivitelerinin arttığı fakat bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

4.2.2. Böbrek dokusuna ait CAT aktivitesi ile ilgili bulgular



Şekil 4.6. Böbrek Dokusu CAT Aktiviteleri.

Tablo 4.8. Deney Gruplarına ait Böbrek Dokusunun CAT Aktivitelerinin Karşılaştırılması

CAT AKTİVİTESİ İÇİN GRUP KARŞILAŞTIRILMASI	p* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrilonitril (Grup 2)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,522
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,150

(* $p<0.05$, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Böbrek dokusunda akrilonitril (Grubu 2) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin anlamlı şekilde ($p<0,05$) azaldığı görüldü.

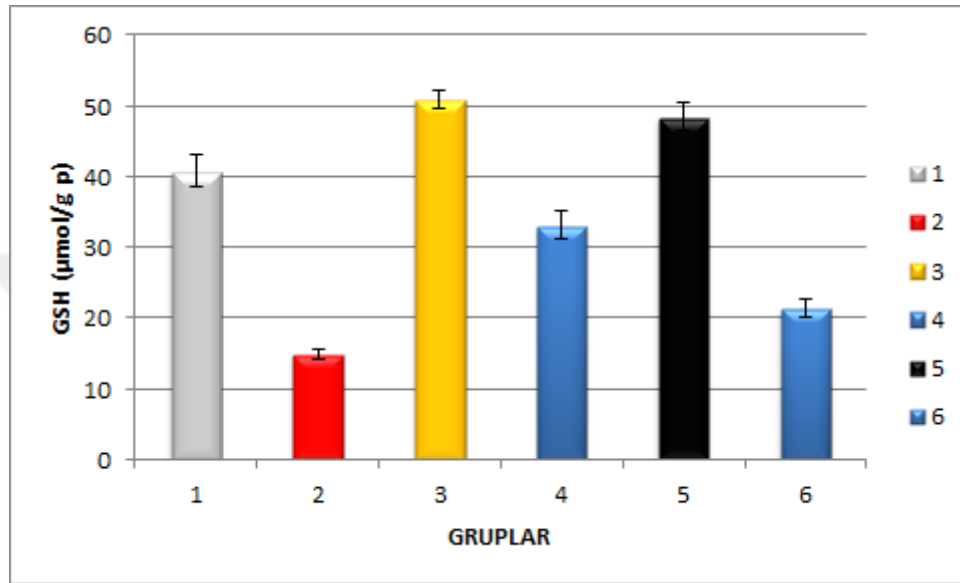
Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin arttığı fakat bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında CAT aktivitesinin arttığı fakat bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görüldü.

4.2.3. Böbrek dokusuna ait GSH düzeyleri ile ilgili bulgular



Şekil 4.7. Böbrek Dokusu GSH Düzeyleri

Tablo 4.9. Deney Gruplarına ait Böbrek Dokusunun GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması

GSH DÜZEYLERİ İÇİN GRUP KARŞILAŞTIRILMASI	p* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrilonitril (Grup 2)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,00
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,00

(* $p<0,05$, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Böbrek dokusunda akrilonitril (Grubu 2) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında GSH düzeylerinin anlamlı şekilde ($p<0,05$) azaldığı görüldü.

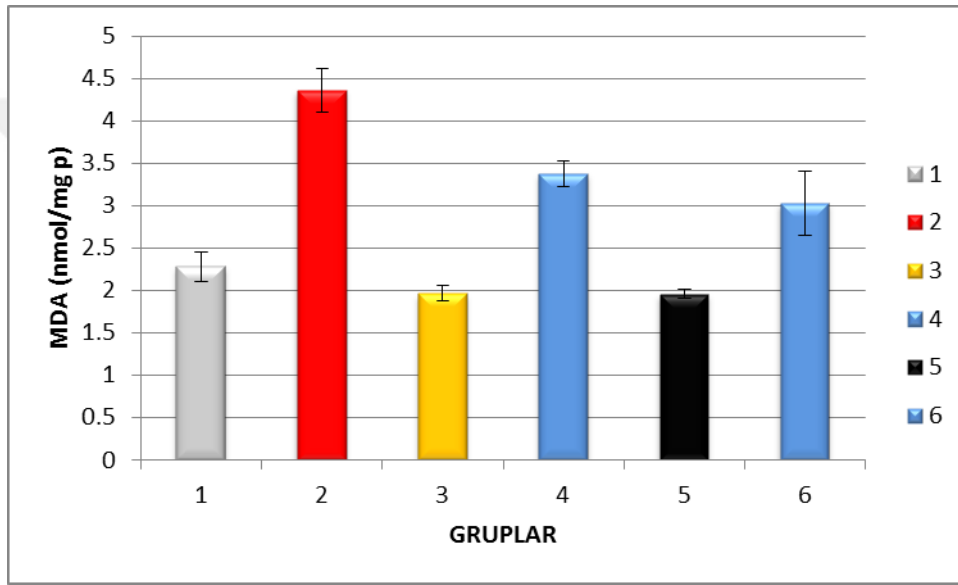
Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında GSH düzeylerinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında GSH düzeylerinin arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında GSH düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında GSH düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ($p<0,05$) görüldü.

4.2.4. Böbrek dokusuna ait MDA düzeyleri ile ilgili bulgular



Şekil 4.8. Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri.

Tablo 4.10. Deney Gruplarına ait Böbrek Dokusunun MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması

MDA DÜZEYLERİ İÇİN GRUP KARŞILAŞTIRILMASI	p* DEĞERLERİ
Kontrol (Grup1) X Akrilonitril (Grup 2)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Kurkumin (Grup 4)	0,00
Akrilonitril (Grup2) X Akrilonitril+Timokinon (Grup 6)	0,00
Kontrol (Grup1) X Kurkumin (Grup 3)	0,00
Kontrol (Grup1) X Timokinon (Grup 5)	0,00

(* $p<0.05$, istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olan değerleri ifade eder)

Böbrek dokusunda akrilonitril (Grubu 2) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin ise anlamlı şekilde ($p<0,05$) arttığı görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı kurkumin verilen grup (Grup 4) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin azaldığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Akrilonitril ile birlikte tedavi amaçlı timokinon verilen grup (Grup 6) ile akrilonitril grubu (Grup 2) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin azaldığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile kurkumin grubu (Grup 3) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu (Grup 1) ile timokinon grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,05$) görüldü.

Ekolojik problemlerin doğası ve algıları sürekli değişmektedir. Sanayi devrimi ve birlikte getirdiği kirliliğe bağlı çevresel bozulma, insanlığın bugüne ve geleceğe yönelik planlarını tehlikeye sokan bir probleme dönüşmüştür. Artık dünyanın farklı bölgelerindeki toprak, hava ve su kirliliği insan sağlığı ve hatta insan sağlığını büyük bir tehlike altına sokmuştur. Kirliliğin çeşitli tanımları vardır. Kirlilik, çevreye herhangi bir madde ya da enerji formunun çevrenin uyum sağlayabileceğinden daha hızlı bir oranda eklenmesi, dağılma, bozulma, geri dönüşüm ya da bazı zararsız şekillerde depolanması olarak tanımlanabilir [100].

Tehlikeli çevresel kirletici maddeler küresel bazda değişik kimyasal maddelerle beraber çeşitli amaçlar için büyük miktarlarda kullanılacağı bölgelere taşınmaktadır. Zamanımızda yaklaşık 5-6 milyon değişik kimyasal madde ve formulasyonun varlığı, bu kimyasalların yaklaşık 1.5 milyonunun yoğun bir şekilde kullanılan maddeler olması, konunun önemine işaret etmektedir. Bu kimyasalların yaklaşık 33000-63000 kadarının tehlikeli olarak kabul edildiği ve 183000 farklı isim verildiği bilinmektedir [101].

Akrilonitril, ABD Environmental Protection Agency (EPA)'ye göre, su kirleticisi ve tehlikeli bir hava kirleticisi olarak kabul edilmiştir [45]. Akrilonitril değişik dozlarda, çeşitli canlılar üzerine toksik etki göstermektedir [102]. Akrilonitril (vinil siyanür), nitril kauçuk ve polimerize edilmiş plastiklerin (atılabilir şişeler gibi) sentezinde yaygın olarak kullanılan reaktif bir kimyasaldır. Kimyasal maddenin bir tek dozu, adrenal hemorajiye neden olurken, kronik yutma, adrenokortikal hipofonksiyona neden olur. Sıçanlarla yapılmış mevcut akut deneyler, karaciğer, akciğer, böbrek ve adrenalde indirgenmiş GSH'da doza bağlı hızlı bir azalmayı göstermektedir. Serebral GSH konsantrasyonunun azalması aşamalıdır ve akut deneylerde mortalite oluşumu ile korelasyon göstermektedir. İçme suyundaki akrilonitrilin kronik olarak alınması, kimyasal karsinojenlerin neden olduğu gibi, hepatik GSH konsantrasyonunun doza bağlı olarak artmasına neden olur [103].

Çeşitli çalışmalarda oksidatif stresin akrilonitril toksisitesindeki rolü gösterilmiştir (104). Akrilonitrilin ana eliminasyonun yolu, GST yoluyla merkapturik asit oluşturmak için GSH ile konjugasyonu ve sitokrom P450 ile siyanür (CN)'nin üretimidir [105].

AKSA fabrikasından sıvı olarak suya ve toprağa, buharlaşarak da havaya akrilonitril karışması, 17 Ağustos depreminden sonra bölgede yaşanan endüstriyel çevre felaketlerinden en bilinenidir. Çevreye dağılan akrilonitril miktarına ve doğaya verdiği zararın büyüklüğüne bakıldığında daha önce bu ölçekte akrilonitrilden kaynaklı çevresel bir felaketin yaşanmadığı görülmektedir [106]. Tehlikeli bir çevresel kirletici olması [102] ve 17 Ağustos 1999'da, Taşköprü yakınlarında kurulu olan akrilik elyaf üreten AKSA'da depremin etkisiyle akrilonitril depolamada kullanılan tankların hasar görmesi sonucu çevreye yaklaşık 6400 ton akrilonitril saçılmasıyla çevresel bir felaket yaşanması [106] ve ayrıca akrilonitrilin yaygın uygulamalarına rağmen, toksikolojik ve farmakolojik özellikleri ile ilgili verilerin yetersiz olması [107,108] bu çalışmada akrilonitrili seçmemizde etkili oldu.

İnsan karaciğer mikrozomlarında akrilonitrilin epoksit metaboliti olan CEO oluşumu oranının, sıçan karaciğer mikrozomlarındakine benzemesi ve bununla birlikte CEO, sıçanlarda fareler'den daha uzun bir süre için saptanabilmesi bu çalışmada sıçan kullanmamızda etkili oldu [44]. Neredeyse ölümcül bir dozda akrilonitrilin karaciğer ve midede DNA ile etkileştiği bulunmuştur, ancak kısa ve uzun süreli bir maruziyetin ardından akrilonitrilin beyin DNA'sı ile etkileşiminin gösterilmemesi [44] ve akrilonitrile maruz kalan işçilerin epidemiyolojik bir incelemesinde Sakurai ve Kusumoto'nun, nörolojik semptomlar ve fonksiyonel karaciğer değişiklikleri insidansında artış bulmaları [109] karaciğer dokusunu çalışma için seçmemizde etkili oldu. Literatürü taradığımızda akrilonitrilin bizim çalışmamızda kullandığımız oral dozda böbrek üzerinde oluşturduğu oksidatif hasarı araştırmak için yapılmış yeterli bir çalışma olmaması ayrıca akrilonitrilin böbrekte de metabolize olması [110] bu çalışma için böbrek dokusunu seçmemizde etkili oldu. Akrilonitrilin karaciğerde ve böbrekte oluşturduğu oksidatif hasarı belirlemek ve bu oksidatif hasara karşı timokinon [94] ve kurkuminin olası koruyucu etkilerini araştırmak için bu dokularda antioksidan parametrelere baktık.

Günümüzde sağlıklı bir hayat sürmek ve hastalıklardan korunmak amacıyla konvansiyonel tıp uygulamalarında kullanılan ilaçların ve kimyasal maddelerin aynı zamanda bir yönüyle de sağlık açısından risk oluşturmasından dolayı insan sağlığı, veteriner hekimlik, beslenme ve çevre ile ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmı hem hastalıkların tedavisinde hem de koruyucu hekimlikte bitkisel kökenli ürünlerin kullanımını özendirilmektedir [111]. *Ranunculaceae* (Düğünçeğigiller) familyasından bir bitki olan Çörek otu (*Nigella sativa*) ve tohumundan elde edilen preparatlar, ülkemizde olduğu gibi dünya genelinde ve özellikle Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde bağışıklık uyarıcı, hipotansif, antienflamatuar, antikanser, antioksidan, hipoglisemik, spazmolitik ve bronkodilatör özellikleri için yaygın olarak

kullanılmaktadır [94,112]. *Nigella sativa*'nın farmakolojik özelliklerinin birçoğunun timokinon varlığı ve onun antioksidan etkisi ile ilişkili olduğu bilinmektedir [94]. Timokinon, konsantrasyonuna bağlı olarak Fe bağımlı lipid peroksidasyonunu önleme kabiliyetine sahiptir. Güçlü bir O₂ süpürücü aktiviteye sahiptir. Bu özellikleri ile timokinon, oksidatif stresi azaltabilir ve vücutta antioksidan savunmayı artırabilir. Timokinonun güçlü bir antioksidan olması [94] bu çalışmada timokinon kullanmamızın başlıca nedenidir.

Zingiberaceae familyasından çok yıllık bir bitki olan zerdeçalın (*Curcuma longa*) köksapında bol miktarda bulunan doğal bir polifenolik bileşik olan kurkuminin, topikal veya oral uygulamayı takiben kapsamlı antienflamatuar ve antikanser özellikler gösterdiği bilinmektedir [77]. Kurkuminin bir veya daha fazla etkileşim ile antioksidan özellikler gösterdiği bildirilmiştir: O₂'i hidrate ederek serbest radikalleri süpürmek veya nötralize etmek ve oksidatif reaksiyon ve/veya sitokrom P450 gibi oksidatif enzimlerin inhibisyonu için daha az kullanılabilir hale getirmek, oksidatif kaskat ile etkileşmek ve bunun sonucunu önlemek ve Fe gibi metal iyonlarının oksidatif özelliklerini şelatlamak ve etkisizleştirmek [113]. Kurkuminin karaciğer ve böbreklerde biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri iyileştirerek Fe ve etanol toksisiteleri üzerinde yararlı özelliklere sahip olduğuna dair kanıtlar vardır. Kurkuminin kurşun, alüminyum, kadmiyum, tioasetamid ve akrilonitril gibi kimyasalların toksik etkilerini tersine çevirdiği de gösterilmiştir. Kurkumin ayrıca hepatik bozuklukların iyileştirilmesi için bir ilaç olarak önerilmiştir. Tüm bu özelliklerinden ve klinik olarak ve Gıda ve İlaç İdaresi tarafından güvenli bir gıda katkı maddesi olarak onaylanmış olmasından dolayı [77] oksidatif hasara karşı bu çalışmada kurkumini kullandık.

Guangwei ve ark. sıçanlarla yaptıkları çalışmada ardışık 7 gün gavaj yoluyla günlük 50 mg/kg akrilonitril verilmesiyle beyin ve karaciğerdeki SOD aktivitesinin azaldığını ancak, bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ayrıca gavaj yoluyla 100 mg/kg kurkumin, 50 mg/kg akrilonitril verilen kurkumin+akrilonitril grubunun, akrilonitril grubu ile karşılaştırıldığında, hem beyin hem de karaciğerde SOD aktivitesini orta derecede artırmasına rağmen, değişikliklerin istatistiksel olarak anlam ifade etmediğini bildirmişlerdir. Guangwei ve ark. akrilonitril verilmiş grupta kontrol grubuna göre MDA seviyesinin anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. Kurkumin+akrilonitril grubunda, akrilonitril grubuna göre hem beyin hem de karaciğerde MDA seviyesinin anlamlı şekilde azaldığı bildirilmiştir. Guangwei ve ark. akrilonitril grubunda kontrol grubuna göre GSH seviyesinin anlamlı bir biçimde azaldığı bildirilmiştir. Akrilonitril grubuna kıyasla kurkumin+akrilonitril grubunda GSH seviyesinin anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. Guangwei ve ark. kontrol grubuna kıyasla akrilonitril grubunda CAT aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığını bildirmişlerdir. CAT aktivitesinin kurkumin+akrilonitril grubunda akrilonitril grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir [114]. Bizim çalışmamızda da Guangwei ve ark. yaptığı çalışmanın sonuçları ile benzer şekilde akrilonitrilin

hepatotoksik etkileri ve kurkuminin bu toksisteyi tedavi edici etkileri görüldü. Fakat bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak akrilonitril grubunda kontrol grubuna göre SOD aktivitesinin azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bunun nedeni bizim çalışmamızın süresinin Guangwei ve ark. yaptığı çalışmadan daha uzun olması olabilir. Buradan yola çıkarak akrilonitrile maruziyetin süresi uzadıkça antioksidan aktivitenin azalacağı sonucu çıkarılabilir. Yine bu çalışma ile benzer şekilde bizim çalışmamızda da akrilonitril verilen grupta kontrol grubuna göre MDA seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlendi. Buradan yola çıkarak akrilonitrilin oksidan etkileri artırdığı söylenebilir.

Abo salem ve ark. yaptıkları çalışmada 50 mg/kg bwt akrilonitril verilen sıçanlarda hepatik MDA içeriği anlamlı şekilde arttığı diğer taraftan, bu hayvanlarda sırasıyla, GSH, SOD ve GSHpx'in hepatik muhtevasında, sırasıyla %72.4, %81 ve %53.2 oranında anlamlı bir azalma olduğu ifade edilmiştir [115]. Benzer bulgular Mahalakshmi ve ark. tarafından da rapor edilmiştir [43]. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara paralel şekilde akrilonitril grubunun incelediğimiz dokularında GSH düzeyinde ve SOD aktivitesinde anlamlı bir azalma olduğu görüldü.

Birinci ve ark. sıçanlara 200 mg/kg kurkumin ve 20 mg/kg sisplatin i.p. yoldan vererek böbrek dokusu üzerinde yaptıkları çalışmada MDA'nın sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği, sisplatin+kurkumin grubunda ise sisplatin grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı, sisplatin+kurkumin grubundaki yükselmenin kontrol grubuna göre anlamlı görüldüğü, kurkumin grubunda kontrol grubuna göre azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada SOD'nin sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı, sisplatin+kurkumin grubunda ise sisplatin grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği, kurkumin grubu ile sisplatin+kurkumin grubu ve kontrol grubu ile kurkumin+sisplatin grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmediği bildirilmiştir [116]. Bizim çalışmamızda da böbrek dokusunda akrilonitril verilen grupta SOD aktivitesi kontrol grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulunurken akrilonitrilin yanısıra kurkumin verilen grupta ise akrilonitril grubuna oranla yüksek bulundu. Buna göre kurkuminin akrilonitril toksisitesine karşı koruyucu etkileri olduğu söylenebilir. Birinci ve ark. çalışmasında kurkumin grubu ile sisplatin+kurkumin grubu arasında SOD aktivitesi açısından fark gözlenmemiş olmasına rağmen bizim çalışmamızda kurkumin grubu ile akrilonitril+kurkumin grubu arasında SOD aktivitesinde azalma gözlemlendi. Buradan yola çıkarak akrilonitrilin böbrek SOD aktivitesi düzeylerinde sisplatin'e göre daha çok azalmaya yol açtığı söylenebilir.

Şen ve ark. sıçanlara 200 mg/kg i.p kurkumin ve 20 mg/kg i.p sisplatin vererek karaciğer dokusu üzerinde yaptıkları incelemede MDA'nın sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği, sisplatin+kurkumin grubunda ise sisplatin grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı, sisplatin+kurkumin grubunda kurkumin grubuna göre istatistiksel olarak

anamlı bir artışın bulunduğu, sisplatin+kurkumin grubundaki artışın da kontrol grubuna göre anlamlı olduğu, kurkumin grubunda kontrol grubuna göre azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada SOD'nin sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı ($p=0,000$), sisplatin+kurkumin grubunda ise sisplatin grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği, kurkumin grubu ile sisplatin+kurkumin grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmediği, diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda da anlamlı bir farklılık gözlenmediği bildirilmiştir [117]. Bizim çalışmamızda da Şen ve ark. çalışmasına benzer şekilde karaciğer dokusunda MDA düzeyleri akrilonitril verilen grupta kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek, akrilonitril+kurkumin grubunda ise akrilonitril grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Yine bu çalışmaya paralel biçimde kontrol grubuna oranla akrilonitril+kurkumin grubunda MDA düzeylerinin yükseldiği gözlemlendi. MDA düzeyleri kurkumin alan grupta kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu. Buna göre kurkuminin akrilonitrilin lipid peroksidasyonu üzerine olan negatif etkilerini düzenlemeye yardımcı olduğu söylenebilir.

Palipoch ve ark. sıçanlara 20 mg/kg sisplatin, 200 mg/kg kurkumin ve 250 mg/kg α -tokoferol vererek karaciğer dokusu üzerinde yaptıkları incelemede sisplatinin, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA seviyesini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artırdığını, kurkumin+sisplatin grubunda MDA seviyesinin sisplatin grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı, kontrol grubuna göre sisplatin grubunda SOD ve CAT aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığı, kurkumin+sisplatin grubunda CAT aktivitesinin sisplatin grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği bildirilmiştir [118]. Palipoch ve ark. yaptığı çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda da hem karaciğer hem de böbrek dokusunda kurkumin+akrilonitril grubunda CAT aktivitesinin akrilonitril grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği gözlemlendi. Buradan yola çıkarak kurkuminin her iki doku üzerinde antioksidan etkileri gözlemlendi.

Abdel-Motaal M. Fouda ve ark. subkütanöz 3 mg/kg Civa(2) klorürü ($HgCl_2$) ve gavaj yoluyla 10 mg/kg timokinonu sıçanlara vererek böbrek dokusunda yaptıkları çalışmada $HgCl_2$ +timokinon grubunun MDA seviyesini $HgCl_2$ grubunun MDA seviyesinden daha düşük bulmuşlardır. Aynı çalışmada $HgCl_2$ maruziyeti ile kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşen GSH seviyesinin ve CAT aktivitesinin $HgCl_2$ +timokinon grubunda $HgCl_2$ grubuna göre yükselmesi anlamlı bulunmuştur [119]. Bizim çalışmamızda da Abdel-Motaal M. Fouda ve ark. yaptığı çalışmaya benzer şekilde MDA düzeyleri timokinon+toksik madde grubunda toksik madde grubuna göre daha düşük bulundu. Bununla birlikte yine bu çalışmada olduğu gibi GSH düzeyleri ve CAT aktiviteleri timokinon+toksik madde grubunda toksik madde grubuna göre daha yüksek bulundu. Bu sonuçlara timokinonun kuvvetli antioksidan etkilerinden söz edilebilir.

Meguid ve ark. diyabet sonucu dokularda MDA seviyesinin yükseldiğini, serum SOD aktivitesinin azaldığını, buna karşın timokinonun haftada 6 gün olmak üzere 30 gün boyunca 3

mg/mL, i.p. olarak verilmesiyle birlikte MDA seviyesinin artışının azaldığını, doku SOD aktivitesinin ise arttığını bildirmişlerdir [120]. Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla benzer şekilde timokinonun oksidatif stres oluşturuvcu etkenlerin düşürdüğü SOD aktivitesini artırdığı gözlemlendi.

Yayla ve ark. *Nigella sativa* L. etanol ekstresi kullanarak karaciğer dokusu üzerinde yaptıkları çalışmada sağlıklı grup ile gavaj olarak 1000 mg/kg *Nigella sativa* L. etanol ekstresi verilen grup arasında rat serumunda ölçülen SOD aktivitesi, MDA ve GSH seviyelerinde belirgin bir değişim gözlenmediğini bildirmişlerdir [121]. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak timokinon verilen grupta kontrol grubuna göre SOD aktivitesi ve GSH seviyelerinde artış, MDA düzeyinde ise azalma gözlemlendi. Buna göre timokinonun *Nigella sativa* L. etanol ekstresinden daha etkili bir antioksidan olduğu söylenebilir.

Sayed-Ahmed ve ark. ratlarda gentamisinele oluşturdukları akut renal toksisitede kan CAT aktivitesinin ve GSH düzeyinin kayda değer şekilde azaldığını, timokinon verilen sıçanlarda ise önemli miktarda artış olduğunu bildirmişlerdir [122]. Bizim çalışmamızda da bu çalışma ile benzer şekilde toksik madde verilen grupla toksik madde+timokinon verilen grupta CAT aktivitesinin ve GSH düzeyinin arttığı gözlemlendi.

Literatüre baktığımızda akrilonitril ile bu dozda yapılmış bizim çalışmamıza benzer çalışmaların birçoğunun süresi kısa olduğu için biz çalışmamızın süresini benzer çalışmalardan daha uzun olacak şekilde 21 gün olarak belirledik. Buna bağlı olarak akrilonitril maruziyetine karşı kullandığımız kurkumin ve timokinonun uzun süredeki antioksidan etkilerinin daha da belirgin hale geldiği söylenebilir. Bu çalışmada, diğer çalışmalarla uyumlu bir şekilde, akrilonitrilin karaciğer ve böbrek dokularında SOD, CAT aktivitelerinde ve GSH, MDA düzeylerinde yaptığı değişikliklere bakarak oksidatif stres yarattığını ayrıca doğal bileşikler olan kurkumin ve timokinonun antioksidan sistem üzerine olumlu ve oksidatif hasarı tedavi edici etkilerini gözlemlendi. Bir çevresel kirletici olan akrilonitrilin toksik etkileri nedeniyle mümkünse hiç kullanılmaması gerektiği, kullanımdan kaldırılamıyorsa bunu maruz kalan bireylere profeksi amaçlı kurkumin ve/veya timokinon kullanımı önerilebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Akrilonitril verilmesinden sonra literatürle uyumlu olacak şekilde ratlarda ağırlık kaybı ve hareketlerde yavaşlama gözlenmiştir. Akrilonitril verilen çalışma gruplarında ratların karaciğer ve böbrek dokularında lipit peroksidasyonun biyobelirteci olan MDA düzeyi artmıştır ancak kurkumin ve timokinon verilmesiyle antioksidan sistem olumlu etkilenmiş MDA seviyesinde dolayısı ile lipit peroksidasyonunda düşme gerçekleşmiştir.

Akrilonitril maruziyeti karaciğer, akciğer, böbrek, beyin gibi çeşitli organ ve dokularda oksidatif strese bağlı hasar oluşturur, oluşan bu oksidatif hasar biyokimyasal belirteçler ve histopatolojik parametrelerdeki değişikliklerle tespit edilir. Timokinon antikanser, serbest radikal temizleyici, antidiyabetik ve antienflamatuar özellikleri nedeniyle birçok çalışmada kullanılmış ve sağlıkla ilgili pekçok önemli bulgunun ortaya çıkarılmasına katkı sağlamıştır fakat akrilonitrilin toksik etkilerine karşı etkinliği araştırılmamıştır. Timokinon gibi antikanser ve antioksidan etkilere sahip kurkumin ile yapılan çalışmalarda akrilonitrile uzun süreli maruziyet çalışmalarında ne gibietkiler yapacağı ile ilgili yeterli çalışma yapılmamıştır.

Sonuç olarak, hâlihazırdaki bulgular, sanayide oldukça yaygın kullanılan akrilonitrilin toksik etkilere sahip olduğunu ve bu etkilerin oksidatif stresin oluşmasında etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, kurkumin ve timokinon güçlü antioksidan etkileri nedeniyle akrilonitril maruziyeti sonucu oluşan oksidatif stresin neden olduğu doku ve organ hasarında tedavi edici olabilirler ve bu çalışmadan elde edilen verilerin ışığında akrilonitrilin toksik etkilerinden korunmak için bir alternatif olabilirler.

KAYNAKLAR

- [1]. Güler., Ç, Çobanoğlu., Z.1994. Su Kirliliği, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 12, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, TC. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, ISBN 975-7572-60-8, Ankara.
- [2]. Güvendik, G., Boşgelmez, İ. ACRYLONITRILE.(2000).Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 29 (1), 31-58. <http://dergipark.gov.tr/jfpanu/issue/35536/394515>
- [3]. Pham-huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. International Journal of Biomedical Science.;4(2): 89–96.
- [4]. Yonar, S. M. (2017). Farklı Su Sıcaklıklarında Tutulan Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)’da Çörek Otu (*Nigella sativa*) Yağının Oksidatif Stres ve Bazı Antioksidan Parametrelere Etkisi. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5(9):1038-1043. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i9.1038-1043.1231>
- [5]. Balkan, S. (2017). Eritrositlerde in vitro Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Olarak Değerlendirilen Çeşitli Bitki Ekstraktları. Trakya University Journal of Natural Sciences, 18(2): 185-191.
- [6]. Rivera-Espinoza, Y., Muriel, P. (2009). Pharmacological actions of curcumin in liver diseases or damage. Liver international, 29(10): p. 1457-1466.
- [7]. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mol Cell Biochem, 266: 37-56.
- [8]. Fridovich, I. (1975). Superoxide dismutases. Annu Rev Biochem, 44: 147-159.
- [9]. Seven, A., Candan, G. (1996). Antioxidan savunma sistemleri. Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 27: 41-50.
- [10]. Yu, P.B., (1994). Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species, Physiol. Rev., 74(1):139-62.
- [11]. Castaner, A., Roig, E., Serra, A., De Flores, T., Magrina, J., Azqueta, M., Sanz, G. and Betriu, A. (1990). Risk stratification and prognosis of patients with recent onset angina. Eur Heart J, 11: 868–875.
- [12]. UYSAL, M. (1998).Serbest Radikaller, Lipit Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidant Dengeyi Etkileyen Koşullar, Klinik Gelişim, 11, 336- 341.
- [13]. Bal, W., Kasprzak, KS. (2002). Induction of oxidative DNA damage by carcinogenic metals. Toxicol Lett, 127: 55-62.
- [14]. Becker L. B. (2004). New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology Cardiovascular Research, Volume 61, Issue 3, 15 February, Pages 461–470.) <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.10.025> son erişim tarihi 13.06.2018
- [15]. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Review. Physiol. Rev. 2002;82:47–95.

- [16]. Diel Maestro, RF. (1980). An Approach to Free Radicals in Medicine and Biology. *Açta Physiol. Scand.*, 492, 153,
- [17]. Poli, G.(1993). Liver damage due to free radicals, *Britsch Medical Bulletin* 49 (3), 604.
- [18]. Goldstein, S., Czapski, G., Cohen, H. and Meyerstein, D. (1994). Free radicals induced peptide damage in the presence of transition metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 17 (1) , 11 ,
- [19]. Marrow, JD. (1991). Formation of unique biologically active prostaglandins in vivo by a non-cyclooxygenase free radical catalyzed mechanism. *Adv Prostaglandin, thromboxane, and leukotriene Reserch* 21A : 125-128.
- [20]. Sinclair, AJ., Barnet, AH., Lunec, J. (1990). Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med* 43 : 334- 344.
- [21]. Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic. Biol. Med.* 32, 1102–1115.
- [22]. Akkuş İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Selçuk Üniversitesi Yayınları.
- [23]. Canbay, E., Çelik, K., Dökmetaş, S., Karadayı, K., Turan, M., Keleştemur, F., Şen, M. (2003) Tiroid kanserli hastalarda değişen antioksidan enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu. *C.Ü Tıp Fakültesi Dergisi* 25(9): 151-156.
- [24]. Nimse, S.,T., Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Royal Society of Chemistry*, 5, 27986–28006.
- [25]. Valko, M., Rhodes, CJ., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *ChemicoBiological Interactions*, 160: 1-40.
- [26]. Karabulut, H.; Gülay, M.Ş. (2016). Serbest Radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.*, 4(1): 50-59.
- [27]. Erenel, G., Erbaş, D., Arıcıoğlu, A., (1992). Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. *Gazi Tıp Dergisi*, 3 : 243-250.
- [28]. Shacter E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, 32: 307-26.
- [29]. Akkoyun, H. T. (2012). Fötal Dönemde Nikotine Maruz Kalan Sıçanlarda Oluşan Böbrek Hasarının Engellenmesinde Ellagic Asitin Koruyucu Etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [30]. Aşıcıoğlu, Y.T., (2005).Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü. Uzmanlık Tezi, İstanbul.
- [31]. Gürer, R. (2005). İdiopatik Parkinson Hastalığı Etyopatogenezinde Seruloplazminin yeri ve Proton MR Spektroskopisi İle Verifikasyonu. Göztepe Eğitim ve Araştırma hastanesi, Nöroloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul.

- [32]. Yarsan, E. (1998). Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, , 9(1-2): 89-95.
- [33]. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N., (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.*, 4(8): 118–126.
- [34]. Naruszewicz, M. (2009). "Chronic intake of potato chips in humans increases the production of reactive oxygen radicals by leukocytes and increases plasma C-reactive protein: a pilot study." *The American journal of clinical nutrition*, 89(3): p. 773-777.
- [35]. Mc Cord JM. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.*;108:652-9.
- [36]. Freeman, B.A. and Crapo J.D. (1982). "Biology of disease: free radicals and tissue injury." *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 47(5): p. 412-426.
- [37]. Gedik, S., (2017). *Ratlarda, Akrilamid Kaynaklı Olası Oksidatif Stres Üzerine Krosininin Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karabük üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karabük.*
- [38]. Rao AL, Bharani M, Pallavi V. (2006). Role of antioxidants and free radicals in health and disease. *Adv Pharmacol Toxicol.* 7:29–38.
- [39]. Biçim, G., (2013). *Oksidatif Stres ve Antioksidan Kapasite ile İlişkili Gen Polimorfizmlerinin Değişik Yöntemlerle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.*
- [40]. Hack, V., Schmid, D., Breitzkreutz, R., Stahl-Hennig, C., Drings, P., Kinscherf, R., Taut, F., Holm, E. & Droge, W. (1997). Cystine levels, cystine flux and protein catabolism in cancer cachexia, HIV/SIV infection and senescence. *FASEB J* 11: 84–92,
- [41]. BUTLER A.R., GLIDEWELL C., AND LI MS. (1988). Nitrosyl complexes of ironsulfur cluster. *Adv Inorg Chem* 32: 335–392.
- [42]. Mahajan, A., Tandon, VR. (2004). Antioxidants and rheumatoid arthritis. *J. Indian Rheumatol. Ass.* 12:139–142.
- [43]. Mahalakshmi, K., Pushpakiran, G., Anuradha, CV., (2003). Taurine prevents acrylonitrile-induced oxidative stress in rat brain. *Pol. J. Pharmacol.*, 55, 1037–1043.
- [44]. Woutersen RA. (1998). Toxicologic profile of acrylonitrile. *Scand J Work Environ Health* 24 suppl 2:5-9.
- [45]. Leonard, A., Gerber, G.B., Stecca, C, Rueff, J., Borba, H., Farmer, P.B., Sram, RJ., Czeizel, AJE., Kalina, I. (1999). "Mutagenicity, carcinogenicity, and teratogenicity of acrylonitrile" *Mutat. Res.*, 436,263-283.
- [46]. IARC International Agency for Research on Cancer. (1999). *Acrylonitrile in: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Lyon, Vol.71, Pt.1, pp.43-108*

- [47]. US Environmental Protection Agency, (1983). Health Assessment Document for Acrylonitrile; Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Vol. EPA-600r8-82-007.
- [48]. Roberts, A.E., Lacy, S.A., Pilon, D., Turner Jr., M.J., Rickert, D.E. (1989). Metabolism of acrylonitrile to 2-cyanoethylene oxide in F-344 rat liver microsomes, lung microsomes, and lung cells, *Drug. Metab. Dispos.* 17 481–486.
- [49]. Li, J., (1991). Acrylonitrile Acute Intoxication: Toxicodynamics and the Effect of Antidotes, Doktora Tezi, Tianjin Medical College, Tianjin.
- [50]. Thier, J., Lewalter, J., Bolt, H.M. (2000). species differences in acrylonitrile metabolism and toxicity between experimental animals and humans based on observations in human accidental poisonings. *Arch Toxicol* 74:184-189.
- [51]. Kopecky, J., Gut, I., Nerudova, J., Zachardova, D., and Holecek, V. (1981). Metabolic studies of acrylonitrile. In *Industrial and Environmental Xenobiotics* (I. Gut, M. Cikrt, and G. L. Plaa, Eds.), pp. 221-230. Springer-Verlag, New York.
- [52]. Kedderis, G. L. (1989). The biotransformation of acrylonitrile: Implications of metabolic studies of risk assessment. *Chemical Industry Institute of Toxicology* 9, 1-5.
- [53]. Meister, A. (1988). Glutathione metabolism and its selective modification. *J. Biol. Chem.* 263, 17205-17208.
- [54]. Day, W. W., Cavazos, R., Jr., and Farooqui, M. Y. (1988). Interaction of methacrylonitrile with glutathione. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 62, 267-278.
- [55]. Vogel, R. A., and Kirkendall, W. M. (1984). Acrylonitrile (vinyl cyanide) poisoning: a case report. *Tex. Med.* 80, 48-51.
- [56]. Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., Chaudhary, A.K., Jha, U.K., Yadav, U.C., Gupta, P.K., Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 15(11):4405-9.
- [57]. Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 6, 391–397.
- [58]. Gupta, R.K., Singh, N. (2013). *Morinda citrifolia* (Noni) alter oxidative stress marker and antioxidant activity in cervical cancer cell Lines. *Asian Pac J Cancer Prev*, 14, 4603-6.
- [59]. Pietta, P., (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63, 1035–1042.
- [60]. Rahman, K., (2007). Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. *Clin. Interv. Aging* 2, 219–236.
- [61]. Mates, J.M., Perez-Gomez, C. and Castro, I.N. (1999). Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*, Vol. 32, No. 8, 595–603.
- [62]. Flohé, L. (1988). Glutathione peroxidase. *Basic Life Sci.* 49:663–668.
- [63]. Arthur, J.R. (2000). The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci.* 57:1825–1835.
- [64]. Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S. and Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense *WAO Journal* 5:9–19.

- [65]. Speranza, M.J., Bagley, A.C., Lynch, RE. (1993). Cells enriched for catalase are sensitized to the toxicities of bleomycin, adriamycin, and paraquat. *J Biol Chem*, 268: 19039–43.
- [66]. Vance, C. K., Miller, A. F. (1998). Spectroscopic comparisons of the pH dependence of Fe-substituted (Mn)superoxide dismutase and Fe-superoxide dismutase. *Biochemistry* 37: 5518–27.
- [67]. MacMillan-Crow, L.A., Crow, J. P., Thompson, J. A. (1998). Peroxynitrite-mediated inactivation of manganese superoxide dismutase involves nitration and oxidation of critical tyrosine residues. *Biochemistry* 37: 1613–22.
- [68]. Stralin, P., Marklund, S. L. (1994). Effects of oxidative stress on expression of extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human dermal fibroblasts. *Biochem J* 298: 347–52.
- [69]. Yamakura, F., Taka, H., Fujimura, T., Murayama, K. (1998). Inactivation of human manganese-superoxide dismutase by peroxynitrite is caused by exclusive nitration of tyrosine 34 to 3-nitrotyrosine. *J Biol Chem* 273: 14085–9.
- [70]. Buschfort, C., Muller, M.R., Seeber, S., Rajewsky, M. F., Thomale, J. (1997). DNA excision repair profiles of normal and leukemic human lymphocytes: functional analysis at the single-cell level. *Cancer Res* 57:651–8.
- [71]. Kayış, T. (2015). Diazinonun subletal konsantrasyonlarının *Pimplaturiorellae* L.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- [72]. Tozkoparan, B., Aytaç, S. P. (2007). Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S-transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi* 27:139–64.
- [73]. Uedaa, M., Hungb, Y.C., Teraia, Y., Saitoc, J., Nunobikid, O., Nodad, S., Ueki, M. (2005). Glutathione-S-transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol*, 96:736–40.
- [74]. Racker, E. (1955). Glutathione reductase from bakers' yeast and beef liver, *J. Biol. Chem.* 217 855–865.
- [75]. Rutgers, A., Heeringa, P., Tervaert, J. W. (2003). The role of myeloperoxidase in the pathogenesis of systemic vasculitis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 21: S55-63.
- [76]. Klebanoff, S. J. (1999). Myeloperoxidase. *Proc. Assoc. Am. Physicians*, 111, 383–389.
- [77]. Miquel, J., Bernd, A., Sempere, J.M., Díaz-Alperi, J., Ramírez, A., (2002). The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 34, 37–46.
- [78]. Kurup, P. N. V. (1977). *Handbook of Medicinal Plants*, Vol. I, Central Council for Research in Indian Medicine and Homoeopathy (CCRIMH), New Delhi.

- [79]. Aggarwal, B.B., Sundaram, C., Malani, N., Ichikawa, H. (2007). Curcumin: The Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol*, 595:1-75.
- [80]. Aggarwal, B. B., Kumar, A., Bharti, A. C.(2003). Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*, 23:363-398.
- [81]. Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Banerjee, R.K. (2004). Turmeric and curcumin Biological actions and medicinal applications. *Curr Sci*, 87:44-50.
- [82]. Salem, M., Rohani, S. and Gillies, E.R. (2014). Curcumin, a promising anti-cancer. *RSC Advances*, 21(4), 10815–10829.
- [83]. M. Griesser, V. Pistis, T. Suzuki, N. Tejera, D. A. Pratt and C. Schneider, *J. Biol. Chem.*, 2011, 286, 1114–1124.
- [84]. Sreejayan, N., Rao, M. N. A., Priyadarsini, K. I. and Devasagayam, T. P. A. (1997). *Int. J. Pharmacol.*, 151, 127–130.
- [85]. Gümüşel, A. (2013).Adolesan Çağdaki Sıçanların Epididiminden Alınan Spermilere ve Testis Leydig Hücrelerine Sigara Dumanının ve Kurkumin Antioksidanının Etkilerinin Mikroskopik İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [86]. Babayan, V., Koottungal, D., Halaby, G. (1978). Proximate analysis, fatty acid and amino acid composition of *Nigella sativa* L. seeds. *J Food Sci* 43(4):1314–1315.
- [87]. Gali-Muhtasib, H.U., Abou Kheir, W.G., Kheir L.A., Darwiche, N., Crooks, P.A. (2004). Molecular pathway for thymoquinone induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes. *Anticancer Drugs*, 15: 389–399.
- [88]. Gali-Muhtasib, H., Diab-Assaf, M., Boltze, C., Al-Hmaira, J., Hartig, R., Roessner, A. et al. (2004). Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53-dependent mechanism. *Int J Oncol*, 25: 857–866.
- [89]. Shoieb AM, Elgayyar M, Dudrick PS, Bell JL, Tithof PK. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *Int J Oncol* 2003; 22: 107–113.
- [90]. Worthen, D. R., Ghosheh, O. A., Crooks, P. A. (1998). The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed *Nigella sativa* L. *Anticancer Res* 18: 1527–1532.
- [91]. Altındağ, F. (2018). Prenatal Uygulanan Diklofenak Sodyum ve Timokinonun Postnatal Sıçan Testis Hücrelerine Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması, Doktora Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- [92]. Gali-Muhtasib, H., Roessner, A., Schneider-Stock, R. (2006). Thymoquinone: a promising anti-cancer drug from natural sources. *Int J Biochem Cell Biol*, 38: 1249–1253.
- [93]. Mansour, M.A., Nagi, M.N., El-Khatib, A.S., Al-Bekairi, A. M. (2002). Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell Biochem Funct* 20: 143–151.

- [94]. Mollazadeh, H., Hosseinzadeh, H. (2014). The protective effect of *Nigella sativa* against liver injury: a review. *Iran J Basic Med Sci*, 17:958-966.
- [95]. Gerhardt, P.; Murray, R.G.E.; Wood, W.A.; Krieg, N.R. (1994). "Methods for General and Molecular Bacteriology", ASM, Washington DC, ISBN 1-55581-048-9, p 518.
- [96]. Kurt, N., (2008). Yaşa Bağlı Olarak Antioksidan Enzimlerin Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) Aktivitelerinin ve MDA (MDA) Seviyelerinin İncelenmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [97]. Janero, DR. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Rad Biol Med* 9:515-40.
- [98]. Kasap, Y., (2010) .Glutasyon (GSH) Düzeyinin Plasentada Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [99]. Kök, D., (2011). Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratların Böbrek Dokusu Oksidan ve Antioksidan Durumu Üzerine Likopenin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- [100]. Rakıcı, A.G., (2010). Eu Environmental Policy and Turkey With Special Reference to Industrial Pollution, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Avrupa Birliği Enstitüsü Avrupa Birliği Siyaseti ve Uluslararası İlişkiler Anabilimdalı, İstanbul.
- [101]. Meyer, E. (1989). *Chemistry of Hazardous Materials*. Brady Press, New Jersey, pp.374-377.
- [102]. Talınlı, İ., Sunar, T., Pilatin, K.M. (1998). Environmental Risk Assessment of Hazardous Materials, DPT Project, İstanbul, pp.14-15.
- [103]. Szabo, S., Bailey, K.A., Boor, P.J.2 ve Jaeger, R.J., (1977). Acrylonitrile and Tissue Glutathione: Differential Effect of Acute and Chronic Interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 79, No. 1, 32-37.
- [104]. Recnage, R. O. (1983). Carbontetrachloride hepatotoxicity status quo and future prospects. *Trends Pharmacol Sci*, 4:129-130.
- [105]. Fennell, T. R., Kedderis, G. L., Sumner, S. C. (1991). Urinary metabolites of (1,2,3-¹³C) acrylonitrile in rats and mice detected by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem Res Toxicol*;4:678-687.
- [106]. Bakırcı, N., Endüstriyel Bir Çevre Felaketi: Akrilonitril (2000). *TTB Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi Cilt 1, Sayı 1*.
<http://www.ttb.org.tr/dergi/index.php/msg/article/view/467/444>.
- [107]. Dudley, H.C., Sweeney, T.R., and Miller, J.W. (1942). *J. Ind. Hyg. Toxicol*, 24, 27-36.
- [108]. Wilson, R.H., and McCormick, W.E. (1949). *Industr. Med*, 18, 243-245.
- [109]. Sakurai, H., and Kusumoto, M. (1972). *Rodo Kagaku*, 48, 273-382.
- [110]. Zitting, A., Tenhunen, R., Savolainen, H. (1981). Effect of intraperitoneally injected acrylonitrile on liver, kidney and brain. *Acta Pharmacol Toxicol* 49: 412-5.

- [111]. Dattner, A. M. (2003). From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to future. *Dermatol Ther*, 16: 106-13.
- [112]. Baytop, T. (1984). Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. İ.Ü. Yayınları No:3255.
- [113]. Samanta, L., Panigrahi, J., Bhanja, S., Chainy, G.B.N. (2010). Effect of Turmeric and its Active Principle Curcumin on T₃-Induced Oxidative Stress and Hyperplasia in Rat Kidney: A Comparison. *Ind J Clin Biochem*, 25(4):393-397.
- [114]. Guangweia, X., Rongzhua, L., Wenronga, X., Suhuaa, W., Xiaowua, Z., Shizhong, W., Yea, Z., Aschnerb, M., Kulkarnic, S.K. & Bishnoi, M. (2010). Curcumin pretreatment protects against acute acrylonitrile-induced oxidative damage in rats. *Toxicology* 267 140-146. doi:10.1016/j.tox.2009.11.001
- [115]. Abo-Salem O.M., Abd-Ellah, M.F., and Ghonaim, M.M. (2011). Hepatoprotective Activity of Quercetin against Acrylonitrile-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Biochem Molecular Toxicology* 25, (6), pp.386-392.
- [116]. Birinci, H. (2016). Sıçanlarda Sisplatinin Neden Olduğu Böbrek Hasarına Kurkuminin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- [117]. Şen, B. (2015). Sıçanlarda Sisplatinin Neden Olduğu Karaciğer Hasarına Kurkuminin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- [118]. Palipoch, S., Punsawad, C., Koomhin, P. & Suwannalert, P. (2014). Hepatoprotective effect of curcumin and alpha-tocopherol against cisplatin-induced oxidative stress. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14:111. doi:10.1186/1472-6882-14-111
- [119]. Fouda, A.M., Daba, M.Y., Dahab, G.M. and Sharaf el-Din, O.A. (2008). Thymoquinone Ameliorates Renal Oxidative Damage and Proliferative Response Induced by Mercuric Chloride in Rats. *Nordic Pharmacological Society. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 103, 109-118. Doi: 10.1111/j.1742-7843.2008.00260.x
- [120]. Abdelmeguid, N. E., Fakhoury, R., Kamal S. M., Al Wafai, R. J. (2010). *J Diabetes Dec*, 2, 4, 256-66.
- [121]. Yayla, N., Ratlarda Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksikitesi Üzerine *Nigella sativa L.* Etanol Ekstresinin Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2014.
- [122]. Sayed-Ahmed MM., Nagi MN., (2007). Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol.*, 34 (5-6), 399-405.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Kemal AKKAYA
Doğum Tarihi : 18.01.1985
E-mail : kemalakkaya@mersin.edu.tr
Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Eczacılık Fakültesi	Mersin Üniversitesi	2007-2013
Yüksek Lisans	Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD	Mersin Üniversitesi	2014-2018